原　　著

重症感染症下のブドウ糖代謝動態に関する研究

—エンドトキシン投与犬での実験—

新潟大学医学部外科教室第一講座（主任：武藤輝一教授）
小林　孝

Glucose Kinetics in Dogs Following E. coli Endotoxin Injection

Takashi KOBAYASHI

First Department of Surgery, Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Terukazu MUTO)

The contribution of hindlimb glucose consumption to that of whole body, and the whole body glucose kinetics in dogs after endotoxin(Et) administration were investigated. Mongrel dogs in control (C) group received continuous infusion of pentobarbital sodium at the rate of 5mg/kg/hr. A bolus of 3mg/kg of E. coli lipopolysaccharide was injected to the dogs in group E in addition to the pentobarbital infusion. Femoral arterial blood flow (FABF) and arterio-venous differences (A−V diff.) of glucose, lactate, and alanine were measured, and the net hindlimb glucose uptake (or release) of these substrates was calculated using multiplication of the A−V diff. by corresponding FABF. Endogenous glucose production rate (Ra), glucose disappearance rate (Rd), and glucose oxidation rate (Rox) were determined by the simultaneous primed constant infusion of [6−^{3}H] and [U−^{14}C] glucose. Two additional indices for the tissue ability of glucose oxidation, i.e., %$\dot{V}_{CO_2}$ from glucose and % of Rd oxidized were also calculated. E group showed significant increase of the net glucose uptake by hindlimb, while the net release of lactate and alanine were not changed by the Et injection. Ra, Rd, and Rox were significantly increased after Et administration. Conclusions of the present study are 1) Cori cycle and glucose-alanine cycle between the liver and the skeletal muscle is not contributing to the enhanced gluconeogenesis in the liver, and 2) the increase of peripheral glucose uptake enhances the whole body glucose oxidation after Et injection,

Reprint requests to: Takashi KOBAYASHI, First Department of Surgery, Niigata University School of Medicine, Asahimachi 1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町 新潟大学医学部外科教室第一講座 小林　孝

because the ability of peripheral tissue to oxidize unit amount of glucose is not impaired.

Key words: endotoxemia, glucose kinetics, primed constant infusion 法
エンドトキシン血症、ブドウ糖代謝動態

はじめに

一般外科手術後にみられる重症感染症は患者の予後を大きく左右する因子であり，抗生物質など化学療法の進歩にもかかわらず依然としてこの管理に難渋することが少なくない．最近，術後重症感染症患者の病態を捉えその管理を進歩させる目的で，エネルギー代謝の変動に関する多くの研究が行われている．なかでも脂肪やアミノ酸代謝との相互関係から代謝基質の中心をなすブドウ糖代謝の変動に関する研究が多い[1)2)]．

しかしながら，重症感染症モデルや対象となる種の違いにより様々な結果が導かれ，相反する結果も報告されている．Hinshaw[3)]，ならびに Wolfe[4)] は異なった実験モデルで異なった実験結果が発表されている主たる理由は，それぞれ重症感染症の異なった時相を捉え解析しているためであろうと述べている．従って，同一実験モデルにおける各代謝動態の指標を経時的な変化として捉えることが重要である．

また，重症感染症下におけるブドウ糖のエネルギー代謝を研究する際，その主眼はブトウ糖が生体内でいかに有効に利用されているかという点を明らかにすることである．つまりどれだけの ATP が産生されるか，すなわち，どれだけのブドウ糖が TCA cycle に入り酸化されているかを調べることにある．

今回われわれは，きわめて明確で再現性に富む実験モデルと考えられるエンドトキシン投与法を選択した．このモデルにおいて後肢でのエネルギー基質の正味の出納と whole body でのブドウ糖代謝動態の変動ー内因性ブドウ糖産生速度（Ra），ブドウ糖消費速度（Rd），およびブドウ糖酸化速度（Rox）ーとを経時的な変化として捉え，検討を加えた．

すなわち，実験1においては［6-^{3}H］ブドウ糖の primed constant infusion 法を用いた whole body でのブドウ糖代謝の変動と後肢での正味の基質の出納法による末梢組織のブトウ糖代謝の変動とを同一犬における経時的な変化として捉え，実験2においては，［6-^{3}H］ブドウ糖と［U-^{14}C］ブドウ糖とを併用した primed constant infusion 法により whole body でのブドウ糖酸化速度の変動を測定し，それぞれ知見を得たので報告する．

実験 1

1. 実験方法

1) 対象

10－20kg の雄雑種成犬を用い，約20時間の絶食後ペントバルビタール麻酔下に各カニュレーションを行った．輸液用は左外頸静脈に，採血路としては血行を妨げないよう工夫し，左伏在動・静脈より左大腿動・静脈にカニュレーションを行った．大腿動脈血流量（FABF）測定用として，右大腿動脈に電磁血流計を装着した．持続的にペントバルビタール 5mg/kg/hr のみが投与された群を対照群（C群）さらにエンドトキシン（lipopolysaccharide E. coli 0127：B8，Difco）3mg/kg が bolus injection（30秒以上かけて）された群をエンドトキシン群（E群）として両群で代謝系の各指標を測定し比較，検討した．

2) 実験プロトコール

約20時間絶食後の雄雑種成犬12頭をC群6頭，E群6頭に分けた．ペントバルビタールの持続微量注入（初回25mg/kg＋5mg/kg/hr）麻酔下に気管内挿管を施行し，従量式レスピレーター（R-60，アイカ）による調節呼吸下に実験を行った．挿管後30分で動脈血ガス分析を施行し，これが正常範囲内（Po_2=90－110mmHg，Pco_2=20－35mmHg，pH=7.35－7.45）[5)] にあることを確認した後，［6-^{3}H］ブドウ糖を初回 5μCi/kg 投与し，引き続き 3.3μCi/kg/hr を持続投与した．アイソトープの初回投与後60分にエンドトキシン（Et）3mg/kg（生理食塩水 10ml に溶解）（E群），生理食塩水 10ml のみ（C群）のいずれかを bolus injection で動注し，その後240分間経時的に代謝動態の各指標を測定し両群間で比較，検討した．FABF の測定は，Et 投与前15分の値を前値とし以下 Et 投与後15，60，120，240分に測定した．後肢での正味の基質の出納と血漿ホルモン値測定，動脈血ガス分析用の採血は FABF 測定と同時に行った．予備実験で［6-^{3}H］ブドウ糖の初回投与後30分で isotopic steady state が得られることが確認されたので，whole body でのブドウ糖代謝動態の測定にあたっては，初回投与後30分から60分までの任意の3点での値を前値とし，Et 投与後 5，15，30，45，60分および以

下30分毎に240分までの値を求めた．実験中，輸液は生理食塩水のみを 6ml/kg/hr の速度で投与した．

3) 大腿動脈血流量（FABF）の測定

FABF は，右大腿動脈に装着した電磁血流計（RT500，Narco）により実測し，この値をイヌの体表面積（0.112×体重$^{2/3}$）（m^2）当りで表示した．

4) 動脈血ガス分析

FABF 測定と同時に採取した動脈血より自動ガス分析装置（ABL-3，Radiometer）にて，pH，Po_2，Pco_2，[HCO_3^-]，および Base Exess（BE）を測定した．

5) 後肢での基質の正味の出納

ブドウ糖，および肝での糖新生の重要な前駆物質である乳酸とアラニンの骨格筋よりの正味の取り込み，放出量を後肢における動・静脈濃度較差と血流量との同時測定により求めた．大腿静脈血採血用のカニュレーションに際しては，血行を妨げないよう工夫し伏在静脈より大腿静脈へ十分細いカニューレ（アトム多用途チューブ 4Fr）を挿入した．採血時に求めたヘマトクリット値（Ht）より大腿動脈血漿流量を求め，これに大腿動・静脈濃度較差を乗ずることにより正味の出納を求めた．血漿ブドウ糖濃度はグルコース・オキシダーゼ固定化酵素電極法で，血漿乳酸濃度は酵素電極法（Roche 640）で，血漿アラニン濃度は日立アミノ酸分析計835型で求めた．

6) ブドウ糖代謝動態

whole body でのブドウ糖代謝動態を検討するため [6-^{3}H] ブドウ糖を用いた primed constant infusion 法で，内因性ブドウ糖産生速度（Ra），ブドウ糖消費速度（Rd）を求めた[6)7)]．ブドウ糖の比活性（SA）は血漿分離後 Exton-Park 変法[8)]で抽出したブドウ糖の放射能を液体シンチレーションカウンター（Tricarb，Packard）で測定しこれを血漿ブドウ糖濃度で除して求めた．また，持続投与した [6-^{3}H] ブドウ糖溶液についても血漿ブドウ糖放射能と同様に溶液よりのブドウ糖抽出後，放射能測定を行いアイソトープの注入速度の算出に正確を期した．前値およびC群での Ra，Rd は steady state の数式，E群での Et 投与後の値は Steele の non-steady state の数式[9)]で求めた．ブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）は Rd を血漿ブドウ糖濃度で除して求めた．

7) 膵ホルモン

インスリン値（IRI）は固相法で，グルカゴン値（IRG）は2抗体法で求めた．

8) 統計学的手法

数値は，平均値±標準偏差（mean±S.D.）で表し，2群間の比較には Student の t-test を用いて検定し，危険率 $p<0.05$ の場合を有意とした．

2. 結果（実験1）

1) 大腿動脈血流量（FABF）と動脈血ガス分析値の変動

FABF の前値よりの変動率は，Et 投与後15分で有意に低下したが，その後徐々に回復し240分では差がなかった（図 1）．

動脈血ガス分析では，Et 投与後 pH，BE，[HCO_3^-] は有意に低下して著しい代謝性アシドーシスを示した（表 1）．

2) 後肢での基質の出納

血漿ブドウ糖濃度は，Et 投与後15分で著しい有意の上昇を示したがその後次第に低下した．後肢でのブドウ

表 1　動脈血ガス分析値の変動（実験2）

	群	前　値	15	60	120	240（分）
pH	C	7.39±0.05	7.39±0.05 ┐*	7.41±0.07 ┐*	7.44±0.09 ┐*	7.45±0.11 ┐*
	E	7.36±0.04	7.30±0.04 ┘	7.26±0.06 ┘	7.24±0.08 ┘	7.27±0.09 ┘
Pao_2 (mmHg)	C	91.8±17.6	92.2±17.5	96.2±23.6	107.2±27.0	105.6±25.4
	E	100.0±18.8	106.3±15.2	99.6±16.8	101.1±21.0	107.2±23.2
$Paco_2$ (mmHg)	C	35.1±5.4	33.0±5.9	31.6±6.7	27.6±7.9	26.4±9.4
	E	36.3±2.5	32.5±4.9	33.0±6.4	33.0±4.1	31.6±4.5
[HCO_3^-] (mmol/ℓ)	C	21.5±2.4	20.7±2.2 ┐*	20.3±1.4 ┐*	19.4±1.7 ┐*	18.8±2.1 ┐*
	E	20.8±1.4	16.0±2.2 ┘	14.9±3.5 ┘	14.5±2.6 ┘	14.9±2.3 ┘
B.E. (mEq/ℓ)	C	−3.0±3.5	−3.9±3.0 ┐*	−4.1±1.6 ┐*	−3.8±1.3 ┐*	−4.6±1.9 ┐*
	E	−4.3±1.9	−9.9±2.4 ┘	−12.0±4.0 ┘	−12.7±3.8 ┘	−12.1±3.8 ┘

＊：$p<0.05$（C群 vs E群），(mean±S.D.)

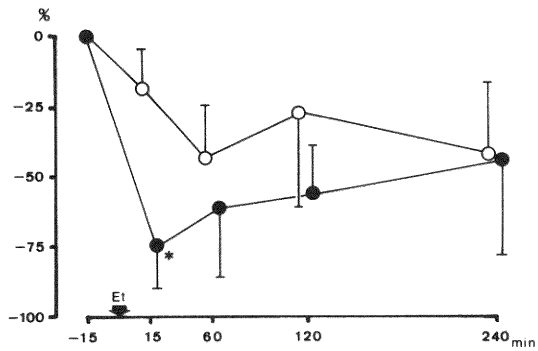
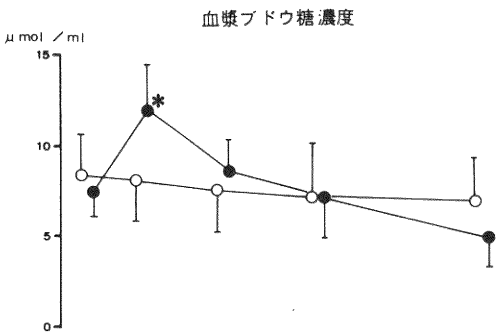


図 1　大腿動脈血流量（FABF）の変動率（実験1）
○−○：C 群（n=6），●−●：E 群（n=6），
*：p<0.05（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）



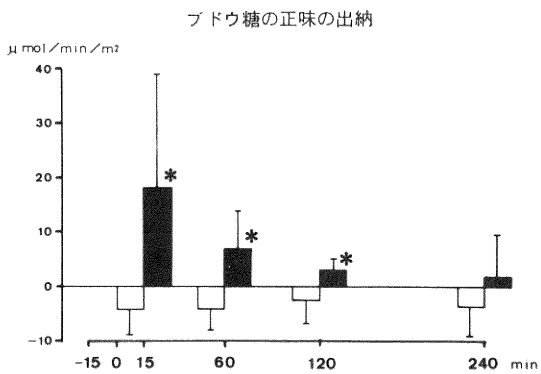
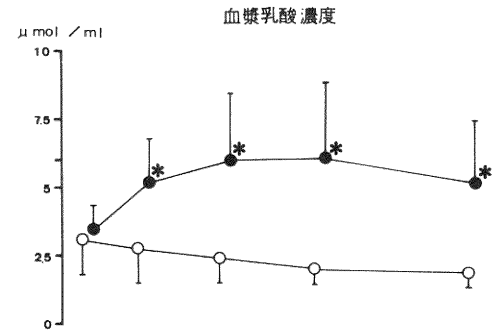


図 2　後肢でのブドウ糖代謝動態の変動（実験1）
○—○：C 群（n=6），●—●：E 群（n=6）
□　：　〃　，■　：　〃
*：p<0.05（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

糖の正味の出納を前値よりの変化量で示すと，Et 投与後後肢でのブドウ糖の正味の取り込み量は増加し60分および120分でC群，E群間に有意差を認めた（−4.2±4.2



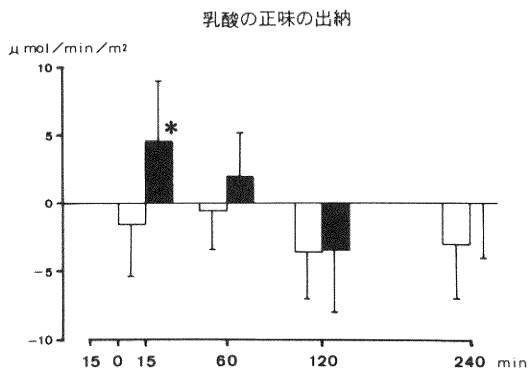


図 3　後肢での乳酸代謝動態の変動（実験1）
○—○：C 群（n=6），●—●：E 群（n=6）
□　：　〃　，■　：　〃
*：p< 0.05（C群 vs E群），（mean±S.D.）

vs 6.8±7.4，−2.6±5.1 vs 2.8±2.3 μmol/min/m²）（図 2）．血漿乳酸濃度は，Et 投与後全経過中有意に高値を示した．後肢での乳酸の正味の出納は両群間で有意差を認めなかった（図 3）．血漿アラニン濃度は，Et 投与後上昇傾向を示し120分には両群間で有意差が認められた．後肢におけるアラニンの正味の出納は，両群間に有意差を認めず時間と共に放出される傾向を示した（図 4）．

3)　whole body でのブドウ糖代謝動態

内因性ブドウ糖産生速度（Ra）は Et 投与後15分，60分をピークとする二峰性を有しC群に比べ有意に増加することが示された．ブドウ糖消費速度（Rd）は，Et 投与後 Ra と同様の変化を示したが，5分の時点を除いた全ての時点で Rd 値が Ra 値を上回っており，その結果次第に低血糖状態に陥ることがわかった．（図 5）Rd を血漿ブドウ糖濃度で除した代謝クリアランス速度（MCR）は，末梢でのブドウ糖取り込み能力を示す指標であるが，これもE群でC群に比べ有意に高い値を示し

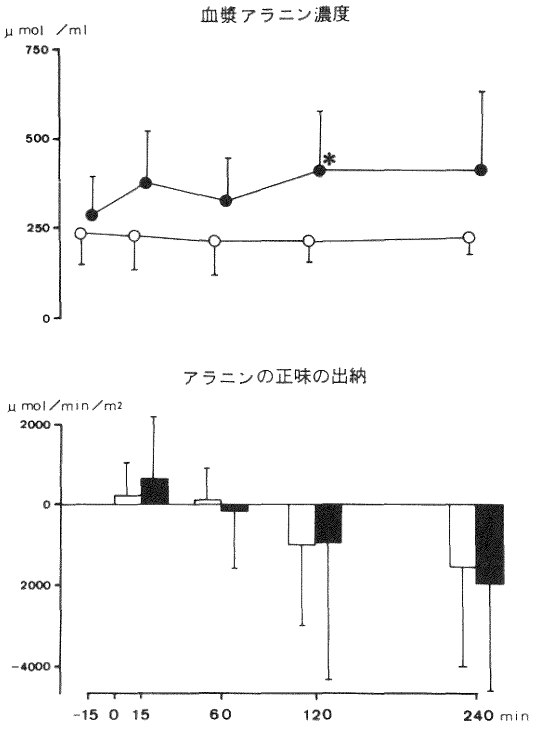


図 4　後肢でのアラニン代謝動態の変動（実験 1）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝6）
□　：　〃　，■　：　〃
*：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

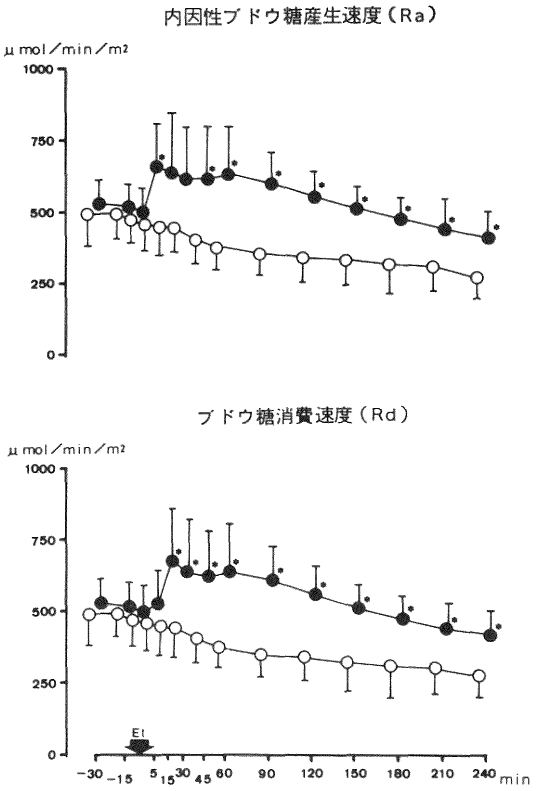


図 5　whole body でのブドウ糖代謝動態の変動（1）
—肝を中心とする内因性ブドウ糖産生速度（Ra）と末梢組織でのブドウ糖消費速度（Rd）の変動—
（実験 1）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝6），
*：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

た（図 6）.

4）エンドトキシン投与後の whole body でのブドウ糖消費速度（Rd）の増加量に占める後肢でのブドウ糖取り込みの増加量の割合

この割合は，Et 投与後15分では14.4%を占めるが経過と共に減少し，120分以降は1.3−1.4%と著しく低下していた（図 7）.

5）膵ホルモン

IRI 値は両群間で有意差は認められなかったのに反し，IRG 値は，Et 投与後120，240分で有意に上昇した（図 8）.

実　験　2

1．予備実験

本実験でのブドウ糖酸化速度測定法は，呼気中 $^{14}CO_2$ 実測により間接的に組織（細胞）内での $^{14}CO_2$ 産生量を知ろうとするもので，本来必要とする組織内における ^{14}C ブドウ糖からの $^{14}CO_2$ 産生量を直接測定するものではない．従って以下に述べる予備実験が必要となる[10].

体内の CO_2 プールがいったん平衡状態に達した後 Et 投与によりその turnover rate が変化する可能性があるため $NaH^{14}CO_3$ の primed constant infusion 法により，まず投与 $^{14}CO_2$ の呼気中 $^{14}CO_2$ への回収率（k）を測定し，かつ Et 投与が回収率に及ぼす影響を検討した．雑種成犬 6 頭を用い $NaH^{14}CO_3$ を240分間持続注入した．最初の90分間は30分毎に呼気を採取し，90分後に生理食塩水を投与した群をC群，Et（3mg/kg）を投与した群をE群としてその後150分間の投与 $^{14}CO_2$ の回収率を測定し両群間で比較，検討した．

その結果，投与 $^{14}CO_2$ の回収率は $NaH^{14}CO_3$ の持続投与後60分でプラトーに達し，Et 投与後15分では若干の上昇を示したが30分以後は前値に復し両群間に差はなかった．平均回収率（k）は63.9%であった（図 9）.

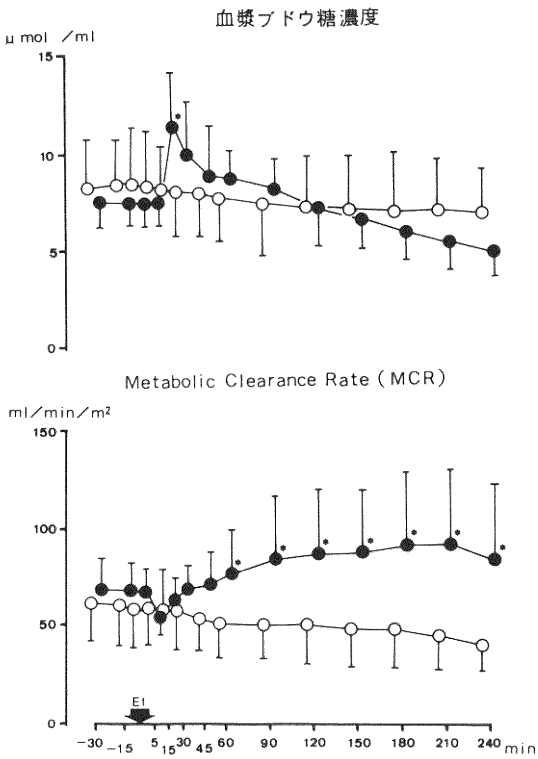


図 6　whole body でのブドウ糖代謝動態の変動（2）
—血漿ブドウ糖濃度およびブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）の変動—（実験 1）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝6），
*：p＜0.05（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

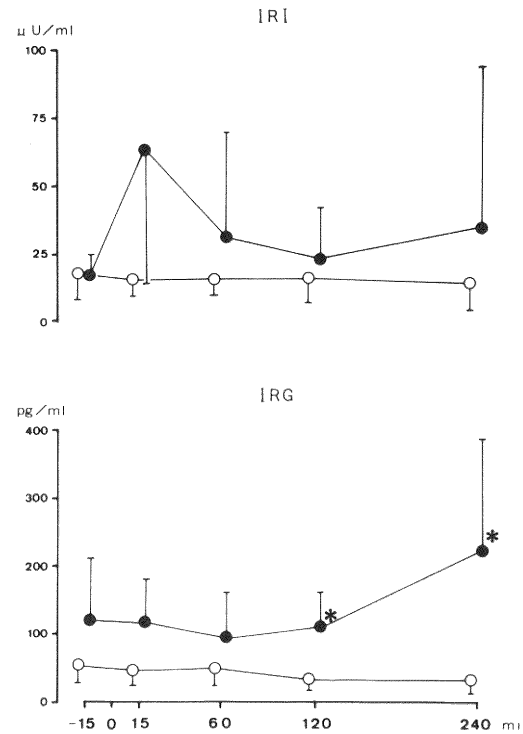


図 8　血漿 IRI, IRG 値の変動（実験 1）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝6），
*：p＜0.05（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

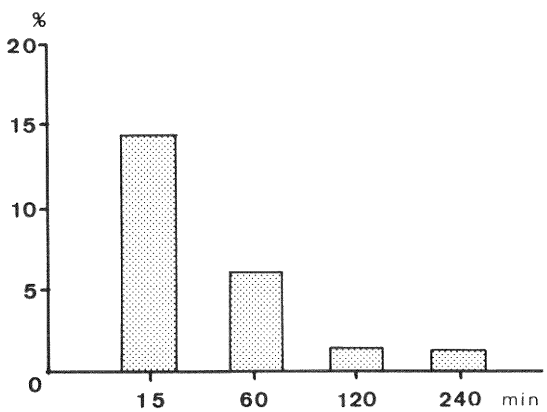


図 7　Et 投与後，whole body でのブドウ糖消費速度（Rd）の増加量に占める後肢でのブドウ糖取り込みの増加量の割合（実験 1）

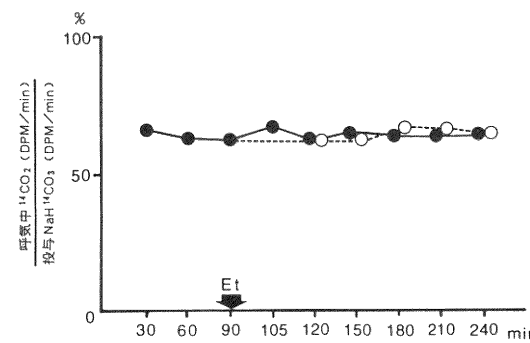


図 9　予備実験　—$NaH^{14}CO_3$ の持続投与による $^{14}CO_2$ の呼気中回収率（k）の測定—（実験 2）
○—○：C 群（n＝3），●—●：E 群（n＝3）

2．実験方法

1）対象

10kg 前後の雑種成犬を用い，約20時間の絶食後ペントバルビタール麻酔下に右頸動脈を動脈圧測定および採血用，右外頸静脈を輸液用，左外頸静脈はアイソトープ注入用に選び各カニュレーションを行った．実験1と同様に，持続的にペントバルビタール 5mg/kg/hr のみが投与された群を対照群（C群），さらにエンドトキシン（Et）3mg/kg が bolus injection（30秒以上かけて）された群をエンドトキシン群（E群）として［6-^{3}H］および［U-^{14}C］ブドウ糖を用いた double isotope tracer 法により，ブドウ糖代謝動態の各指標を測定し比較，検討した．

2）実験プロトコール

約20時間絶食後の雑種成犬11頭をC群6頭，E群5頭に分けた．実験1と同様にペントバルビタール麻酔下に気管内挿管，調節呼吸下で（一回換気量 15ml/kg，換気回数 12−13/min，room air）実験を行った．挿管後30分に動脈血の血液ガス分析を施行し，実験1と同様にこれが正常範囲内にあることを確認した．その後，［6-^{3}H］−，［U-^{14}C］−ブドウ糖の primed constant infusion を同時に開始した．アイソトープの初回投与後90分に Et 3mg/kg（生理食塩水 10ml に溶解）（E群），生理食塩水 10ml（C群）のいずれかを bolus injection し，その後240分間経時的に血液と呼気とを同時に採取しブドウ糖代謝動態の各指標を測定，両群間で比較，検討した．実験中，輸液は生理食塩水のみを 6ml/kg/hr の速度で投与した．

3）ブドウ糖代謝動態の測定

A）呼気分析

呼気分析は**図10**に示したような回路中において，気管内チューブより一方向弁を介してダグラスバッグに呼気を5分間採取し，その O_2 濃度，CO_2 濃度および呼気流量を測定することにより O_2 消費量（$\dot{V}o_2$），二酸化炭素産生量（$\dot{V}co_2$），呼吸商（RQ）および Weir の公式[11]を用いてエネルギー消費量（EE）を算出した．

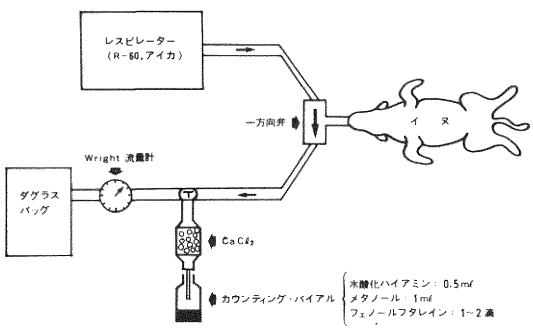


図10　呼気分析用の実験回路（実験2）

B）double isotope tracer 法

［6-^{3}H］−，［U-^{14}C］−ブドウ糖を同時に投与した primed constant infusion 法により，内因性ブドウ糖産生速度（Ra），ブドウ糖消費速度（Rd），およびブドウ糖酸化速度（Rox）を測定した[12]．［6-^{3}H］ブドウ糖は初回 5 μCi/kg，その後 55nCi/kg/min で，［U-^{14}C］ブドウ糖は初回 2.5 μCi/kg その後 27.5nCi/kg/min で持続投与した．また，同時に CO_2 プールを priming する目的で $NaH^{14}CO_3$ を初回 2 μCi/kg 投与した．

4）試料の分析方法

採取した血液は直ちに氷冷し実験終了後4℃で遠心分離して血漿を得た．血漿ブドウ糖濃度，IRI 値，IRG 値は実験1と同じ方法で測定した．呼気中 O_2 濃度，CO_2 濃度は医用ガス分析装置（MG360，ミナト）を用いて，O_2 濃度はジルコニア式酸素計，CO_2 濃度は赤外線ガス分析計で測定した．各時点における呼気流量は，**図10**に示した回路中の Wright の流量計を用いて5分間測定し，標準状態に補正した．

血漿ブドウ糖比活性（SA）も実験1と同様の方法で決定し，また，持続投与した［6-^{3}H］ブドウ糖，［U-^{14}C］ブドウ糖溶液についてもブドウ糖抽出操作による放射能測定の実測を行いアイソトープの注入速度の算出に正確を期した．

呼気中 $^{14}CO_2$ の比活性（SA）は，O'Keefe の方法[13]で求めた．すなわち，フェノールフタレイン1−2滴，水酸化ハイアミン 0.5ml，メタノール 1ml を加えたカウンティングバイアルに**図10**のような回路で呼気を吹き付け，その指示薬；フェノールフタレインの赤色が消失した時点を持って 0.5mmol の CO_2 が吸着されたとみなし，この放射能を液体シンチレーションカウンターで測定することにより $^{14}CO_2$ の SA を算出した．

5）計算

内因性ブドウ糖産生速度（Ra），ブドウ糖消費速度（Rd），およびブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）は，実験1と同様の計算式を用いて算出した．

ブドウ糖酸化速度（Rox）は，次式（1）で算出した．

$$Rox\ (\mu mol/min/m^2) = \frac{SA\ (^{14}CO_2) \times \dot{V}co_2}{SA\ (^{14}C) \times k} \quad (1)$$

SA（^{14}C；^{14}C−ブドウ糖比活性（nCi/μmol）

SA($^{14}CO_2$)；呼気中 $^{14}CO_2$ 比活性（　〃　）
k；CO_2 プールよりの $^{14}CO_2$ の回収率

全 CO_2 産生量のうちブドウ糖酸化に由来する CO_2 の割合（% $\dot{V}co_2$ from glucose）は次式（2）で算出した.

$$\%\ \dot{V}co_2\ \text{from glucose}=\frac{SA\ (^{14}CO_2)\times 6}{SA\ (^{14}C)\times k}\times 100 \quad (2)$$

さらに末梢で消費されたブドウ糖の中で酸化による消費の割合（% of Rd oxidized）は次式（3）で算出した.

$$\%\ \text{of Rd oxidized}=\frac{Rox}{Rd}\times 100 \quad (3)$$

エネルギー消費量（EE）は，呼気ガス分析により測定した $\dot{V}o_2$，$\dot{V}co_2$ より Weir の式[11]（4）で算出した.

$$EE\ (kcal/min/m^2)=\frac{(3.9\times\dot{V}o_2+1.11\times\dot{V}co_2)}{BSA} \quad (4)$$

$\dot{V}o_2$；酸素消費量（L/day）
$\dot{V}co_2$；二酸化炭素産生量（L/day）
BSA；体表面積（m^2）

6）統計学的手法

数値は平均値±標準偏差で表し，2群間の比較には Student の t-test を用いて検定し危険率 $p<0.05$ の場合を有意とした．また，回帰直線は最小二乗法で求め，Pearson 相関係数を算出し，$p<0.01$ を有意とした.

3．結果（実験2）

内因性ブドウ糖産生速度（Ra）およびブドウ糖消費速度（Rd）は Et 投与後 240分まで同様の変化を示し，いずれも有意に増加した（**図11**）．血漿ブドウ糖濃度（BS）は，Et 投与後60－240分まで有意に高値を示した．末梢でのブドウ糖の取り込み能力を示すブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）は，Et 投与後次第に増加する傾向を示したが，2群間での有意差は認められなかった．（**図12**）．両群間の酸素消費量（$\dot{V}o_2$），二酸化炭素産生量（$\dot{V}co_2$），および RQ については有意差を認めなかった．エネルギー消費量（EE）についても，Et 投与後両群間に有意差を認めなかった（**図13**）．ブドウ糖酸化速度（Rox）については，Et 投与前はC群，E群それぞれ190.3±54.4，210.0±55.2（μmol/min/m^2）で有意差を認めなかったが，Et 投与後60分ではそれぞれ172.0±65.2，269.1±49.0（μmol/min/m^2）とE群

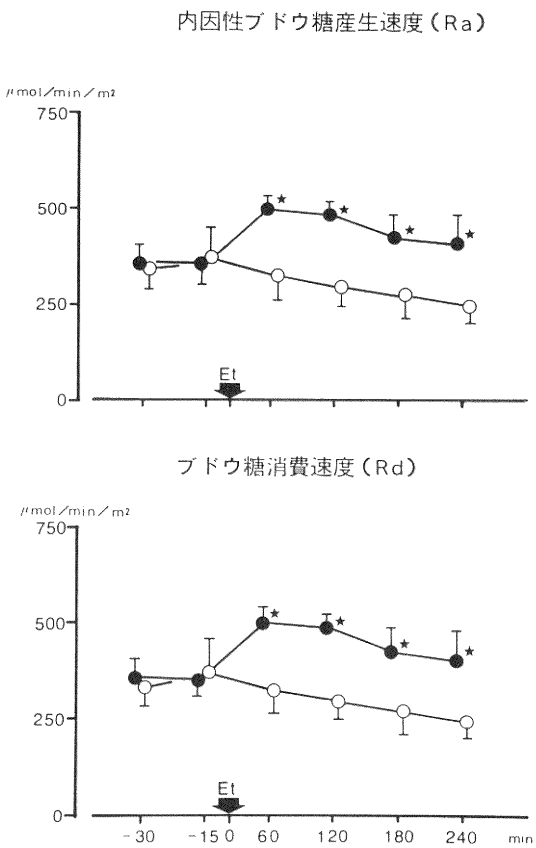
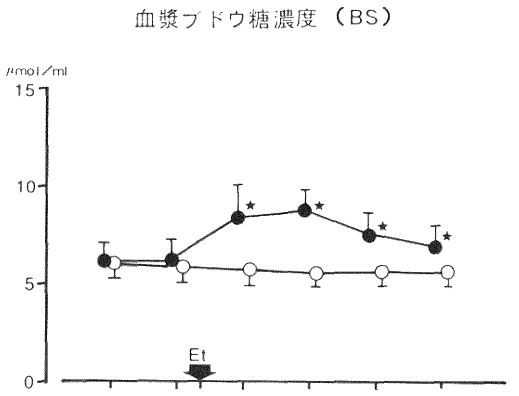
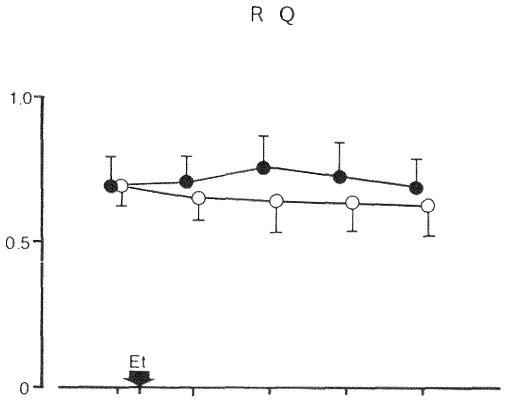
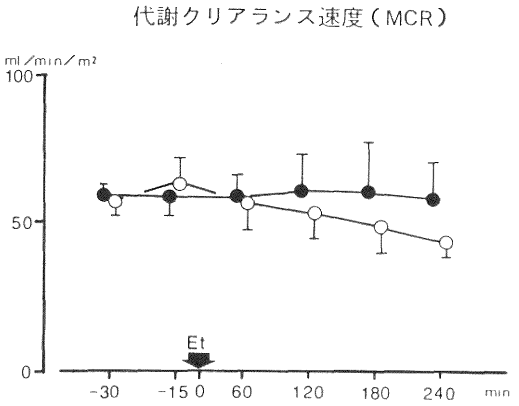


図11　whole body でのブドウ糖代謝動態の変動（1）—肝を中心とする内因性ブドウ糖産生速度（Ra）と末梢でのブドウ糖消費速度（Rd）の変動—（実験2）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝5），
＊：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

で有意に高い値を示し，以後120分までC群と比較してE群での Rox は有意に増加していた（**図14**）．% $\dot{V}co_2$ from glucose は，全 CO_2 産生量に占めるブドウ糖由来の CO_2 の割合を示し，whole body での代謝量の増加に伴う Rox の増加という要因を除外した値であるが，Et 投与後60分で53.1±6.1（%）とC群の34.0±9.3（%）と比べ有意に増加しており，その後240分まで有意に高値を示した（**図15**）．% of Rd oxidized は whole body としての組織のブトウ糖酸化能を示すが Et 投与後C群と比べ有意の変化を認めなかった（**図15**）．Rd と Rox との相関関係を調べると，C群では $r=0.886$，E群では $r=0.665$ となりいずれも有意の正の相関を認めた（**図16**）．IRI は Et 投与後C群と比べ高値を示したが有







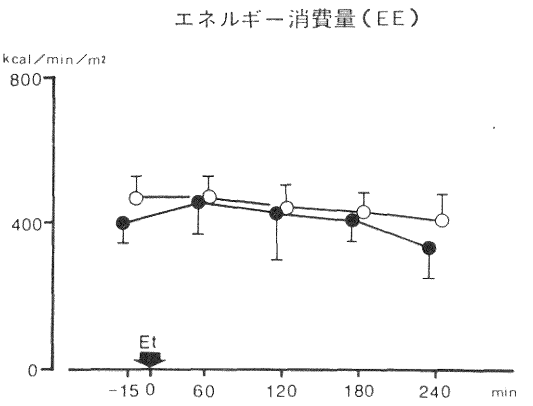


図12　whole body でのブドウ糖代謝動態の変動（2）
—血漿ブドウ糖濃度およびブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）の変動—（実験 2）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝5），
＊：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

図13　呼吸商（RQ）とエネルギー消費量（EE）の変動（実験 2）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝5），
＊：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

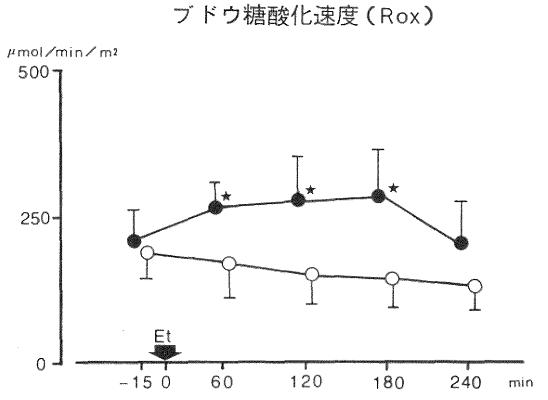


図14　whole body でのブドウ糖代謝動態の変動（3）
—ブドウ糖酸化速度（Rox）の変動—（実験 2）
○—○：C 群（n＝6），●—●：E 群（n＝5），
＊：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

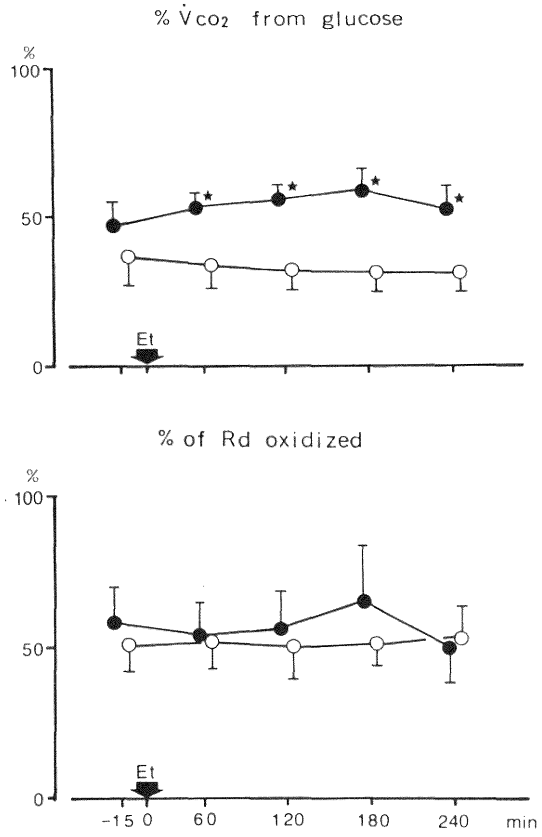


図15　whole body でのブドウ糖酸化能の評価 ―% $\dot{V}co_2$ from glucose と% of Rd oxidized の変動―（実験2）

○―○：C 群（n=6），●―●：E 群（n=5），
*：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

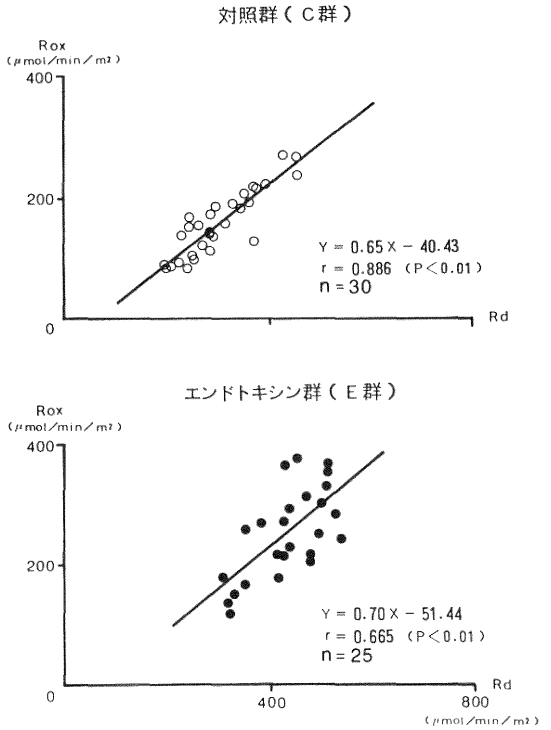


図16　ブドウ糖消費速度（Rd）とブドウ糖酸化速度（Rox）との相関関係（実験2）

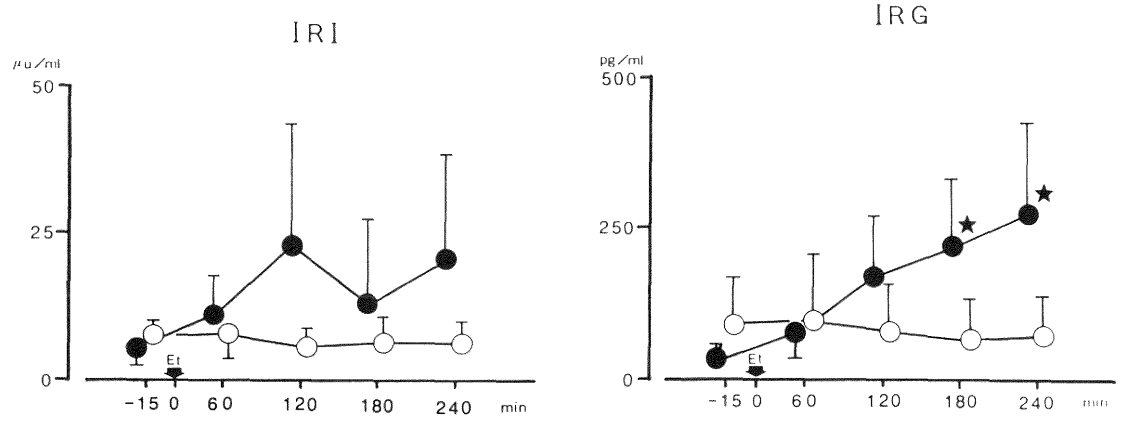


図17　血漿 IRI, IRG 値の変動（実験2）

○―○：C 群（n=6），●―●：E 群（n=5），
*：$p<0.05$（C 群 vs E 群），（mean±S.D.）

意差はなかった．IRG は Et 投与後次第に上昇し180，240分では有意に高値を示した（図17）．

考　　察

今回われわれは，一般外科手術後にみられる重症感染症患者の病態を捉え，その管理を進歩させることを究極的な目的として，エネルギー基質代謝の中心をなすブドウ糖代謝の変動をきわめて明確で再現性に富む実験モデルであるエンドトキシン（Et）投与犬において検討した．すなわち，実験1において末梢臓器としての後肢におけるエネルギー基質の出納と，whole body でのブドウ糖代謝動態の変動とを，さらに実験2においては末梢臓器で取り込まれたブドウ糖が組織（細胞）内でどれだけ TCA サイクルに入り酸化されているかを whole body でのブドウ糖酸化速度を測定することにより，それぞれ経時的な変化として捉え比較，検討した．今回の実験系でペントバルビタールを持続投与した主たる目的は，継続的な追加投与による代謝動態の時間的変動を避けるためである．また，ペントバルビタールは強い循環抑制作用を有することが知られている[14]が，ペントバルビタールのみの投与群を対照群（C群）とし，C群とエンドトキシン投与群（E群）とを時相を一致させて比較することにより，エンドトキシン投与による効果が明らかにできると考えた．

Et 投与後の代謝動態の変動を研究する際，同時に変化する循環動態の変動も時相を一致させて測定されていることが重要である．今回の実験でわれわれは，雑種成犬にエンドトキシン 3mg/kg を bolus injection するモデルを使用したが，この Et 投与犬の循環動態が hypodynamic state を呈することは既に報告した[15]．大腿動脈血流量（FABF）の変動率は，Et 投与後15分で有意に低くなり，その後も全経過中低値を示した．hypodynamic state で FABF が減少するのは当然とも考えられるが hyperdynamic state においても FABF が減少しているとの報告[16]もあるため，大腿動・静脈濃度較差そのものから後肢における基質の正味の出納を推定した場合，誤った結果が得られる危険性があり同時に血流量も実測して正味の出納を算出する必要がある．

また，採血方法においても，カニュレーション時に血行を遮断するなどの問題点を有するものが多い．従って，今回の実験では大腿動・静脈濃度較差の測定と同時に，電磁血流計で血行動態の変動を捉え，また採血用カニュレーションに際しては大腿静脈の血行を遮断しないように伏在静脈からできるだけ細い径のチューブを挿入し，後肢における基質の正確な出納が得られるよう細心の注意を払った．

実験1では，血漿ブドウ糖濃度は Et 投与後15分で一過性に上昇したが，その後徐々に低下して240分後には 5.0±1.3 μmol/ml と低血糖に陥った．後肢におけるブドウ糖の正味の出納は，Et 投与後15分でC群と比べ取り込み傾向を示し60，120分では有意差を持って取り込む方向を示した．この際，ブドウ糖の主たる前駆物質である乳酸とアラニンの血中濃度は，乳酸値が Et 投与後240分まで有意に上昇していたのに対し，アラニン値は120分でのみ有意に高く，それぞれの後肢における正味の出納は Et 投与後240分間いずれもC群と比べ有意差を認めなかった．すなわち，Et 投与により後肢におけるブドウ糖の正味の取り込みは有意に増加したが，乳酸とアラニンの正味の放出の増加はみられなかった．従って，エンドトキシン投与による肝と骨格筋の間での Cori-cycle[17]，glucose-alanine cycle[18] の増大はほとんどないと解釈された．

実験1では，末梢組織（後肢）でのブドウ糖代謝動態と同時に，whole body でのブドウ糖代謝動態も測定した．in vitro の実験において，エンドトキシンは肝細胞における糖新生を抑制することが知られている[19]が，Et に対する神経・内分泌反応を中心とした生体反応を伴う in vivo の実験系では，肝を中心とする内因性糖産生は逆に亢進しており，さらに末梢組織における取り込みが産生を上回っているため血糖値が低下するという報告[20]がみられる．今回の実験でも，肝を中心とする内因性ブドウ糖産生速度（Ra）は Et 投与後5分と60分を頂点とする二峰性の増加を示しており，ブドウ糖消費速度（Rd）も同様の変化を示したが，その絶対値は Ra のそれを上回っているため血糖値が徐々に低下してきたことがわかる．また，末梢組織のブドウ糖取り込み能力を示すブドウ糖代謝クリアランス速度も Et 投与後増加していた．

Ra の増加の成因としては，Et 投与後初期の一過性の増加は，肝のグリコーゲン分解によるブドウ糖放出で説明されている[4]が，今回用いた実験犬も約20時間の絶食にすぎないことから肝におけるグリコーゲン残存による同様の機序が考えられる．実験後期の継続的な Ra の増加は，肝における3炭素中間体よりの糖新生の増加と考えられている．通常，腎における糖新生が内因性ブドウ糖産生速度（Ra）に占める割合はきわめて僅かであるが，代謝性アシドーシスに陥った場合，腎における糖新生の割合が増加するといわれている[4]．今回の実験

でも，**表 1** に示すように Et 投与後著しい hyperlactacidemia に陥っていることから，Ra の増加が腎の糖新生の増加によることも考えられる．しかしながら，最近 Archer ら[21]によって，Et 投与により腎の糖新生は抑制されることが明らかにされており，Et 投与後の Ra の増加における腎の貢献は大きくないものと考えられる．さらに実験1で，血中乳酸値が Et 投与後240分間すべて有意に上昇していたことから，乳酸よりの糖新生が主因をなしていると考えられた．

しかしながら，Cori cycle で説明される骨格筋が乳酸供給の主たる場であるとする成績は得られなかった．見方をかえると，この成績は骨格筋以外の臓器，組織が肝に大量の乳酸を供給していることを支持している．また，後肢が末梢においてブドウ糖を消費する主要な場の一つであることを示す成績が得られたが，骨格筋あるいは皮膚のどちらが重きをなすかは不明である．Mészáros[22]らによれば骨格筋，皮膚の両者が Et 投与後早期の whole body でのブドウ糖消費速度（Rd）の増加の主体をなすが，それは一過性のものであり，後期の増加は，細網内皮系細胞に富む肝，脾を中心とする組織の役割が大きいと報告されている．実験1の結果から，whole body でのブドウ糖消費速度（Rd）の増加分に占める後肢におけるブドウ糖取り込みの増加分の割合を求めると，Et 投与後15，60，120，240分でそれぞれ14.4，6.0，1.4，1.3%であり，Et 投与後後期において whole body でのブドウ糖消費に占める後肢の役割が著しく低下していることがわかり，上記の説を支持するものかもしれない．

実験1で Et 投与による末梢組織へのブドウ糖の取り込み促進が明らかになったので，実験2ではさらに，取り込まれたブドウ糖が末梢組織においてどれだけ有効に利用されているかを検討した．

実験2でも実験1と同様に，雑種成犬にエンドトキシン 3mg/kg を bolus injection するモデルを使用し，Et 投与後60－240分間の各時点において採血と呼気分析を同時に行った．

この Et 投与犬の循環動態が hypodynamic 型を呈することは，前述したとおりである．ブドウ糖代謝動態の指標として，[6-^{3}H] ブドウ糖と [U-^{14}C] ブドウ糖を同時に用いた primed constant infusion 法により，whole body での肝を中心とした内因性ブドウ糖産生速度（Ra），ブドウ糖消費速度（Rd），およびブドウ糖酸化速度（Rox）を求めた．

まず予備実験で体内 CO_2 プールからの $^{14}CO_2$ の回収率（k）及び Et 投与が k に及ぼす影響を検討した（**図9**）．k 値は0.639であり三科ら[23]による無麻酔下における k=1.0 より低下していた．この違いは主にペントバルビタール持続投与によると考えられるが，その機序の詳細は不明である．また Et 投与30分以後 CO_2 プールの turnover rate はほとんど変化しないことが明らかになった．

呼気分析により測定された $\dot{V}o_2$，$\dot{V}co_2$ より呼吸商（RQ）およびエネルギー消費量（EE）を求めると**図13**に示すとおり RQ は両群間で差がなく0.7前後の値を示し，EE にも両群間で差を認めず 400（kcal/mim/m^2）前後の値をとった．C群との比較上，E群は normometabolic state にあるといえる．

実験1と同様に，肝を中心とする内因性ブドウ糖産生速度（Ra）とブドウ糖消費速度（Rd）は Et 投与後有意に増加していたが，末梢組織のブドウ糖取り込み能力を示す指標であるブドウ糖代謝クリアランス速度（MCR）には両群間での有意差がなく，Rd の増加に対する相対的な Ra の増加は低下しておらず，その結果血漿ブドウ糖濃度も Et 投与後60－240分間C群と比べ有意に高値を呈した．

実験1でE群では Et 投与後低血糖がもたらされたが，この場合 Ra，Rd の両者が実験2におけると同様に有意の増加を示した反面，Et 投与直後を除き全経過で Rd＞Ra であり，この結果として低血糖がもたされていた．この意味では，血漿ブドウ糖濃度は肝を中心とする Ra と Rd との相対的バランスにより左右される比較的不安定な指標であり，血漿ブドウ糖濃度の変化よりもそのような変化を引き起こす Et による Ra，Rd，Rox 等の変動を捉えることがより重要と考えられる．

これまで報告された重症感染症下のブドウ糖代謝の研究[24)25)26)]は，血中のブドウ糖がその利用の場としての末梢組織にどれだけ取り込まれたかを観察するにとどまり，組織で取り込まれたブドウ糖がさらにその先どの様な代謝経路をとったかに関するものはほとんどみられない．末梢組織に取り込まれたブドウ糖のその後の代謝経路としては，①ピルビン酸を経由して TCA サイクルに入り酸化を受け ATP を産生し最終的に H_2O と CO_2 として排出される．②グリコーゲン，脂肪，蛋白などの形に変換された後，体内に蓄えられる．③いったんピルビン酸，乳酸などの3炭素中間体に代謝された後，再び糖新生にまわる．という三つの大きな経路が考えられる．Wolfe が示したように[12]今回用いた [6-^{3}H] ブドウ糖と [U-^{14}C] ブドウ糖の double isotope tracer 法により，whole body でのブドウ糖の酸化速度を直接測定す

ることが可能になった．図14に示すとおり，ブドウ糖酸化速度（Rox）は Et 投与後C群と比べ有意に増加していた．

whole body での酸化能を評価する際，評価するデータの表現法によりその意味するところが異なってくる．すなわち，Rox の絶対値は Rd および whole body の代謝量の変動により影響される値である[27]．従って，今回我々は，Rd および体全体の代謝量の変動による Rox の変動を除外するため % $\dot{V}co_2$ from glucose と % of Rd oxidized という2つの指標を用いてC群とE群を比較し，与えられた同量のブドウ糖を組織が酸化する能力を比較，検討した（図15）．% $\dot{V}co_2$ from glucose は全 CO_2 産生量に占めるブドウ糖酸化に由来する CO_2 の割合を表し，whole body での全酸化量の増加に伴うブドウ糖酸化の増加という要因を除外した値である．% of Rd oxidized は末梢で取り込まれたブドウ糖のうち酸化にまわる割合を示し，whole body としての組織のブドウ糖酸化能を表す指標である．今回の実験で % $\dot{V}co_2$ from glucose は Et 投与後C群が30－35%であるのに対しE群では50－60%と有意に高値を示し，Et 投与後ブドウ糖がエネルギー源としてより利用され易くなっていることがわかる．% of Rd oxidized は両群間で差を認めず Et 投与後は50－60%であった．従って，末梢組織のブドウ糖酸化能は Et 投与後60－240分間，C群と同程度に保たれていることがわかった．

以上，アイソトープ・トレーサー法により求めたエンドトキシン投与による whole body でのブドウ糖代謝動態について要約すると，Et 投与により肝を中心とした内因性ブドウ糖産生および末梢組織へのブドウ糖の取り込みが増加し，かついったん組織に取り込まれたブドウ糖は対照群と同程度に酸化されるため whole body でのブドウ糖酸化が亢進するということになる．

両群における Rd と Rox の相関関係を調べると図16に示すとおり，いずれの群においても有意の正の相関が認められた．in vitro の実験ではエンドトキシンは肝における糖新生を直接抑制すると報告されている[19]が，in vivo の実験ではエンドトキシン投与後 Ra および Rd は増加することが知られている[20]．この Ra，Rd の増加がもたらされる機序として，in vivo においてはコルチコイド，グルカゴン等のホルモンや交感神経系の興奮等の肝の糖新生を亢進させる因子の総和が，Et の肝の糖新生に対する直接抑制作用を上回っていることが考えられる．既に述べたように，今回の実験ではこのうち血漿グルカゴン濃度の有意の増加が確認された．また，インスリン値に変化がないことより末梢でのブドウ糖消費の亢進は，エンドトキシン自身のインスリン様作用（insulin like action）[28]によるものかもしれない．

今回示されたブドウ糖酸化速度（Rox）の増加は内因性ブドウ糖の利用に関してのみ観察されたもので，外から投与されたブドウ糖の利用に関しては，さらに実験を重ねる必要があろう．

ま　と　め

ペントバルビタール持続麻酔下の雑種成犬に，エンドトキシン（Et）3mg/kg を bolus injection し，ブドウ糖代謝動態を測定して以下の結果を得た．

1）後肢ではブドウ糖の取り込みは有意に増加したが，乳酸とアラニンの放出は増加しなかった．従って肝と骨格筋の間の Cori cycle および glucose-alanine cycle は肝における糖新生の亢進にはとんど寄与していないと考えられた．

2）whole body では，肝を中心とする内因性ブドウ糖産生速度（Ra）と主として末梢組織におけるブドウ糖消費速度（Rd）は Et 投与後増加していた．従って，血漿ブドウ糖濃度は両者の相対的バランスにより左右される比較的不安定な指標であると考えられた．

3）whole body におけるブドウ糖消費に占める後肢での消費の割合は，Et 投与後期においては著しく低下した．従って骨格筋，皮膚以外の何らかの臓器組織においてブドウ糖消費が増加し，そこから肝における糖新生の材料として乳酸が放出されると考えられた．

4）ブドウ糖酸化速度（Rox）は Et 投与後有意に増加した．

5）Et 投与後 % $\dot{V}co_2$ from glucose は有意に増加していた．従って，Et 投与後ブドウ糖がエネルギー基質として利用され易くなることが示された．

6）% of Rd oxidized は両群間で差がなかった．従って，Et 投与後末梢組織のブドウ糖酸化能が十分保たれていることが示された．

以上より要約すると，Et 投与により肝を中心とした内因性ブドウ糖産生，および末梢組織へのブドウ糖取り込みが増大し，かついったん組織に取り込まれたブドウ糖は対照群と同程度に酸化されるため whole body でのブドウ糖の酸化が亢進する結果になると考えられた．

稿を終えるにあたり，御指導と御校閲を賜りました武藤輝一教授に深甚なる謝意を捧げます．さらに直接御指導を戴いた吉川恵次救急部助教授，ならび

にこの研究に御協力下された共同研究者各位に深謝致します.

本研究の一部は文部省科学研究費（総合研究 A60304066 および一般研究 A61440056）の補助によった.

本論文の要旨は第86回日本外科学会総会および第22回日本医学会総会にて発表した.

参 考 文 献

1) **Hinshaw, L.B.:** Concise review: The role of glucose in endotoxin shock, Circ. Shock, **3**: 1～10, 1976.

2) **Long, C.L.:** Energy balance and carbohydrate metabolism in infection and sepsis, Am. J. Clin. Nutr., **30**: 1301～1310, 1977.

3) **Forscher, B.K., Lellehei, R.C., Stubbs, S.S.:** Shock in low-and high-flow state, Excerpta Medica, Amsterdam, 245～249, 1972.

4) **Powanda, M.C., Canonico, P.G.:** Infection: The physiologic and metabolic responses of the host, Elsevier, New York, 213～243, 1981.

5) **Nagatomo, T., Satoh, H., Sugai, T., et al.:** The sequence and correlation of the changes in several parameters of energy metabolism induced by ischemic insult in heart muscle, Jpn. Heart J., **25**: 239～252, 1984.

6) **Wolfe, R.R:** Tracers in metabolic research. Alan R., Liss incorp., New York, 81～101, 1984.

7) **吉川恵次, 酒井靖夫, 富山武美, ほか:** 種々の病態下での内因性糖産生の量的把握, 外科と代謝. 栄養, **18**: 125～132, 1984.

8) **吉川恵次, 酢 光明, 三科 武, ほか:** 手術侵襲に伴う肝でのアラニンからの糖新生, 外科と代謝. 栄養, **16**: 55～64, 1982.

9) **Steele, R.:** Influence of glucose loading and of injected insulin on hepatic glucose output, Ann. N.Y. Acad. Sci., **82**: 420～430, 1959.

10) **Wolfe, R.R. and Burke, J.F.:** Glucose and lactate metabolism in experimental septic shock, Am. J. Physiol., **235**: 219～227, 1978.

11) **Weir, J.B., de V.:** New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism, J. Physiol., **109**: 1～9, 1949.

12) **Wolfe, R.R.:** Tracers in metabolic research, Alan R., Liss incorp., New York, 113～130, 1984.

13) **O'Keefe, S.J.D., Sender, P.M. and James, W.P.T.:** Catabolic loss of body nitrogen in responce to surgery, Lancet, **2**: 1035～1038, 1974.

14) **Nash, C.B., Davis, F. and Woodbury, R.A.:** Cardiovascular effects of anesthetic doses of pentobarbital sodium, Am. J. Physiol., **185**: 107～112, 1956.

15) **小林 孝, 吉川恵次, 神田達夫, ほか:** エンドトキシン投与犬におけるブドウ糖代謝動態の変動, 外科と代謝・栄養,（投稿中）.

16) **Lang, C.H., Bagby, G.J., Ferguson, J.L., et al.:** Cardiac output and redistribution of organ blood flow in hypermetabolic sepsis, Am. J. Physiol., **246**: 331～337, 1984.

17) **Cori, C.F.:** Mammalian carbohydrate metabolism, Physiol. Rev., **11**: 143～251, 1931.

18) **Felig, P.:** The glucose-alanine cycle, Metabolism, **22**: 179～207, 1973.

19) **Filkins, J.P. and Cornell, R.P.:** Depression of hepatic gluconeogenesis and the hypoglycemia of endotoxin shock, Am. J. Physiol., **227**: 778～781, 1974.

20) **Wolfe, R.R., Elahi, D. and Spitzer, J.J.:** Glucose and lactate kinetics after endotoxinadministration in dogs, Am. J. Physiol., **232**: 180～185, 1977.

21) **Archer, L.T., Benjamin, B., Lane, M.M., et al.:** Renal gluconeogenesis and increased glucoseutilization in shock, Am. J. Physiol., **231**: 872～879, 1976.

22) **Mészáros, K., Lang, C.H., Bagby, G.J., et al.:** Contribution of different organs to increased glucose consumption after endotoxin administration, J. Biol. Chemi., **262**: 10965～10970, 1987.

23) **三科 武, 吉川恵次, 小林 孝, ほか:** 無麻酔犬における糖代謝回転の測定, 外科と代謝・栄養, **20**: 75～81, 1986.

24) **Wichterman, K.A., Chaudry, I.H. and Baue,**

A.E.: Studies of peripheral glucose uptake during sepsis, Arch. Surg., **114**: 740～745, 1979.

25) **Furr, P.A., Peterson, T.V., Dale, J.E., et al.**: Effect of endotoxin on glucose uptake by the isolated forelimb of the dog, Circ. Shock, **5**: 43～50, 1978.

26) **O'Donnell, T.F., JR., Clowes, G.H.A., JR., Blackburn, G.L., et al.**: Proteolysis associated with a defect of peripheral energy fuel substrates in septic man, Surgery, **80**: 192～200, 1976.

27) **Wolfe, R.R.**: Tracers in metabolic research, Alan R., Liss incorp., New York, 41～54, 1984.

28) **Raymond, R.M., Harkema, J.M., Emerson, T.E., JR.**: Insulin-like action of E. coli endotoxin in promoting skeletal muscle glucose uptake in the dog, Adv. Shock Res., **6**: 141～161, 1981.

（昭和63年2月16日受付）