

ラットを用いた ω -3 系不飽和脂肪酸静脈内投与による 免疫賦活の至適条件設定と、重症急性膵炎モデルに おけるその検証

新崎 亘

近畿大学医学部外科学教室 (肝胆膵部門)

抄 録

脂肪乳剤の経静脈投与による免疫賦活を目的として、魚油をベースとした ω -3 系不飽和脂肪酸を種々な比率で添加した脂肪乳剤を作成し、ラットに経静脈的に投与した場合の、脾細胞膜のリン脂質の変化を解析した。魚油を配合して ω -3 系不飽和脂肪酸を増強した乳剤の投与により抗炎症効果の指標とされる EPA/AA 比を短期間で増加させ得ることが明らかとなった。この脂肪乳剤をラット重症急性膵炎モデル作成直後から投与すると、膵炎作成後3日目に採取した脾細胞は、大豆油ベースの脂肪乳剤を投与された場合と比較して、IL-2 や INF- γ 産生能の亢進など免疫反応が賦活化されていた。この魚油ベースの脂肪乳剤は経静脈的投与により短期間で免疫賦活が可能であり、経腸投与が困難な重症急性膵炎などでも、腸管経路を使用しない免疫賦活療法となり得ると考えられ、重症急性膵炎において、感染の成立、あるいは感染の重症化を阻止しうる有効な治療手段となる可能性が示された。

Key words: 重症急性膵炎, 免疫賦活療法, 脂肪乳剤, ω -3 系不飽和脂肪酸

緒 言

高度侵襲疾患における免疫能低下に対する対策として、免疫強化栄養法が開発され、その有効性が解析されてきた¹。免疫強化剤として、腸管上皮細胞の必須栄養素であるグルタミン酸や、アルギニン、核酸、 ω -3 系不飽和脂肪酸などを経腸栄養剤に添加した、免疫強化栄養剤の有効性が報告されている²⁻⁵。

脂質、特に ω -3 系不飽和脂肪酸が免疫系に好影響を与えることは以前より報告されているが⁶、経口投与あるいは経腸投与の場合に、それが細胞膜のリン脂質組成を変化させるには数日以上を要することも報告されている⁷。したがって、重症感染症や周術期などの急性期における作用を期待するには静脈内投与が望まれる。しかし現在使用可能な製剤はわずかにヨーロッパで市販された一製品のみであり、しかも、その組成の配合理由など不詳な点が多い。

一方、重症急性膵炎の死因の80%以上は、膵感染症などの重症感染症である。重症急性膵炎における免疫能の低下は、感染症の合併やその増悪に関与す

る重要因子の一つである。近年、免疫能の指標としてヘルパーT細胞における垂分画比 (Th1/Th2) が用いられ、ラット重症急性膵炎モデルにおいて Th1/Th2 バランスが低下することが報告されている⁸。

今回、新規脂肪乳剤作成の試みとして、 ω -6/ ω -3 比を変化させた種々の脂肪乳剤投与による脾細胞膜の変化から至適組成を検討し、その免疫能の改善効果をラット重症急性膵炎モデルを用いて検証した。

材料と方法

1. 使用動物

実験には、体重200~250 g の SD 系雄性ラット (Charles River Japan, 横浜) を使用し、実験計画は近畿大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

2. 脾細胞の脂肪酸組成変化の検討

SD 系雄性ラットを必須脂肪酸除去飼料 (オリエンタル酵母, 東京) にて2週間飼育した後、24時間絶食としてから実験に供した。ラットは無作為に各

表1 TPN 輸液における脂肪乳剤中の構成成分-1

実験条件	①	②	③	④	⑤
FO(%)	33	50	67	80	90
SfO(%)	67	50	33	20	10
ω -6/ ω -3比	4.4	2.3	1.2	0.7	0.4

TPN, total parenteral nutrition; FO (fishi oil), 魚油; SfO (safflower oil), ベニバナ油.

表2 TPN 輸液における脂肪乳剤中の構成成分-2

実験条件	⑥	⑦	⑧	⑨
FO(%)	20	25	37.5	50
SfO(%)	5	12.5	0	50
SO(%)	15	12.5	62.5	0
OO(%)	60	50	0	0
ω -6/ ω -3比	2.0	2.0	2.0	2.3

TPN, total parenteral nutrition; FO (fishi oil), 魚油; SfO (safflower oil), ベニバナ油; SO (Soybean oil), 大豆油; OO, オリーブ油.

群 (n=8/群) に割付け, ω -6/ ω -3 比の異なる脂肪乳剤を配合した完全静脈栄養 (TPN) を開始した. 脂肪乳剤は, 魚油 (Omewgaven-Fresenius, Fresenius Kabi, Germany), ベニバナ油, 大豆油 (大塚製薬工場, 徳島), およびオリーブ油 (ClinOleic, Baxter, Germany) を表1および表2に示す比率で配合して使用した. TPN の1日の輸液投与量は熱量210 kcal, 脂肪4.3 g, ブドウ糖36.3 g, アミノ酸6.2 g/kg とした.

輸液開始直後, 1日後, 3日後, 5日後にラットをペントバルビタール麻酔下にて開腹し, 下大静脈より採血を行って脱血犠死させ, 脾臓を摘出した. 脾臓を Phosphate-buffered saline (PBS) の入ったシャーレ内に移し, 10 ml シリンジを用いて細胞を単離した. 脾細胞浮遊液を2,000 rpm, 5分間遠心し, 上清を除いた後溶血剤を加えて溶血処理をした. PBS を加えた遠心処理を2度繰り返して脾細胞を得た. 脾細胞 (2×10^8 個) の全脂肪分画を2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenol (50 mg/L) を添加したクロロフォルム/メタノール (2:1, vol/vol) で抽出し, リン脂質分画をアミノプロリルシリカカラム (Varian, Inc., CA, U.S.A.) を用いて分離した. 分離したリン脂質分画は, 脂肪酸分析に供した. 抽出したリン脂質分画を0.46 ml の0.5 M methanolic sodium hydroxide を加えて7分間煮沸した後, 0.6 ml の14% methanolic boron trifluoride を加えてさらに30分間煮沸した. 反応液に0.35 ml のイソシアネートと2 ml 飽和塩化ナトリウム溶液の混合液を加え, 上層のイソシアネート層に抽出された脂肪酸分画を, ガスクロマトグラフィーにて分析した.

3. 急性膵炎の作成と脂肪酸投与

体重200~250 g のSD系雄性ラットを10日間必須脂肪酸欠乏飼料で飼育した後, 24時間絶食とし使用した. ペントバルビタール50 mg/kg を腹腔内に投与して麻酔後, 開腹. 十二指腸に小切開を加え, 乳頭にポリエチレンカテーテルをカニューレーションし, 肝内胆管への逆流を防ぐために肝門部総胆管を一時的にブルドック鉗子でクランプした状態で, 5%タウロコール酸を0.1 ml 注入し, 急性壊死性膵炎を作成した. さらに, 開腹のみを行った群を対照群とした.

膵炎作成直後のラットの右内頸静脈に中心静脈カテーテルを挿入し, 3種類の完全静脈栄養 (TPN) 管理を行った. TPN は, 乳酸リンゲル液 (Lactec D®: 大塚製薬工場) に加えて, 大豆油ベースの脂肪乳剤である Intralipos® (大塚製薬工場) または魚油ベースの脂肪乳剤 (大豆油: 魚油 = 7:3) を使用し, 無脂肪の無脂肪群, 大豆油群 (ω -6/ ω -3=10), 魚油群 (ω -6/ ω -3=2.3) を作成した. 対照群に対しては無脂肪の TPN 管理を行った (n=5/群). TPN は全ての群において同熱量 (87.5 kcal/kg/day) とし, 定流量 (2.9 kcal/ml) で投与した.

TPN 投与3日, または5日後にペントバルビタール麻酔下にて開腹し, 下大静脈より採血を行って脱血犠死させ, 脾臓を摘出した. 採血した血液を3,000 rpm, 20分間遠心することにより血清を分離し, サイトカイン測定に使用した. 脾臓は脾細胞におけるリンパ球サブタイプの割合, 幼若化能, サイトカイン産生の測定に用いた.

4. 脾細胞免疫反応の解析

脾臓をPBSの入ったシャーレ内に移し, 10 ml シリンジを用いて細胞を単離した. 脾細胞浮遊液を2,000 rpm, 5分間遠心し, 上清を除いた後溶血剤を加えて溶血処理をした. PBS を加えて遠心処理することにより脾細胞を得た. そして, 10% Fetal calf serum (FCS) を含む培養液 (RPMI 1640) にて希釈後, 血球計算板にて細胞数を算定した.

脾細胞中リンパ球サブタイプの割合を分析するため, 脾細胞 1×10^5 cells を試験管にとり FITC 標識抗ラット CD4 抗体 (Beckman Coulter) および PE 標識抗ラット CD8 抗体 (Beckman Coulter) を加えて反応させることにより染色を行った. 自動細胞解析装置 FACS can を用いて, CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞の割合を測定した.

脾細胞幼若化能を, MTT assay Kit (Chemicon Japan) を用いて MTT 法により測定した. 脾細胞を 1×10^6 cells/ml に調整し, 平底96 well プレートに0.1 ml ずつ duplicate で加え, さらに培養液, および

刺激物質としての concanavalin A (Con A, 終濃度 5 μg/ml; SIGMA) と共に 37°C の 5% CO₂ インキュベーター内で 20 時間培養した。その後 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-giphenyl-tetrasodium-bromide (MTT)/PBS を 10 μl/well 添加し, さらに 4 時間培養した。そして 100 μl Isopropanol/HCl を加え, 細胞を可溶化後, Microplate reader を用いて吸光度 (570 nm) を測定した。測定結果は Con A 刺激サンプルの吸光度を培養液のみで培養した細胞の吸光度で除した値 (刺激係数) として表した。

脾細胞におけるサイトカイン産生を Rat インターロイキン (interleukin; IL)-2, インターフェロン (interferon; IFN)-γ, IL-10 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Kit (BioSource International) を用い ELISA 法により測定した。脾細胞を Con A 添加 (終濃度 5 μg/ml), 無添加の培養液を用いて 1×10⁶ cells/ml に調整し, 37°C の 5% CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養後, 3,000 rpm, 10 分間遠心し, 上清を採取した。Microplate reader を用いて吸光度 (450 nm) を測定し, 検量線から脾細胞培養液上清中の IL-2, IFN-γ, IL-10 濃度を換算した。さらに, Rat cytokine ELISA Kit により血清の吸光度 (450 nm) を測定し, 検量線より血清中の IL-2, IFN-γ, IL-10 濃度を換算した。

得られたデータは, 平均値±標準誤差 (SE) で表した。また, 検定は t 検定を用い, 有意差水準 5% (p<0.05) で統計学的に有意とした。

成 績

1. 脂肪酸投与至適条件の決定

表 1 に示すような ω-6/ω-3 比を変化させた各種脂肪酸組成の脂肪乳剤を配合した TPN 液を 0~5 日間投与した後の, 脾細胞膜の脂肪酸組成を図 1 に示す。脾細胞膜の脂肪酸組成中でのエイコサペンタエン酸 (EPA), ドコサヘキサエン酸 (DHA) の含有比率は, 脂肪乳剤投与開始後 1 日目から最大変化の半分まで到達し, 3 日後にはほぼ平衡状態に達した。さらに, EPA, DHA 量は, 投与する脂肪乳剤中の ω-6/ω-3 比が低下するとともに増加した。一方, 脾細胞膜中のアラキドン酸 (AA) 比率は時間経過とともにすべての群で低下し, 5 日後には約 14% に達したが, その含有比率は各群間で変化がなかった。その結果, 抗炎症作用の指標とされる EPA/AA 比は, 時間経過とともに増加し, 投与する脂肪乳剤中の ω-6/ω-3 比の低下とともに増加した。

次に, ω-6/ω-3 比をほぼ 2.0 と一定にし, 脂肪乳剤中の構成比率を変化させ (表 2), 魚油の含有量の変化が脾細胞の脂肪酸組成に与える影響を上記と同

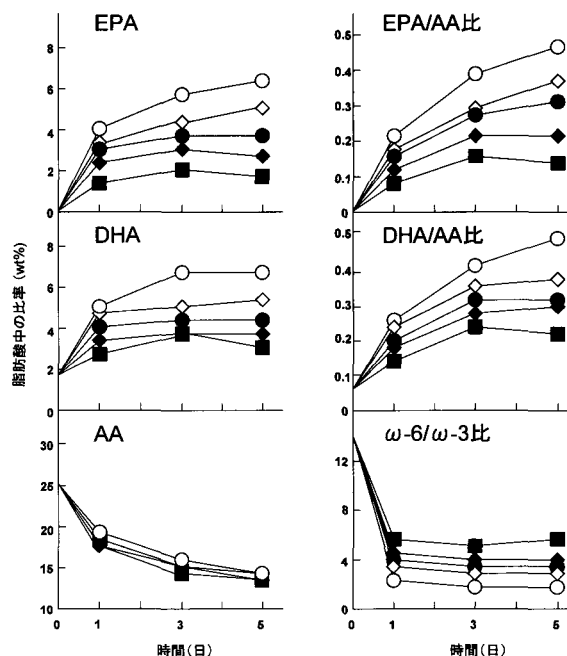


図 1 ω-6/ω-3 比を変化させた各種脂肪乳剤を添加した TPN 開始後のラット脾細胞膜のリン脂質構成の変化 (実験条件: 表 1) 脾細胞膜の脂肪酸組成中のエイコサペンタエン酸 (EPA), ドコサヘキサエン酸 (DHA), アラキドン酸 (AA) 含有比率, EPA/AA 比, DHA/AA 比, ω-6/ω-3 比. TPN 中の脂肪乳剤組成 (表 1 中に提示): ■, ①; ◆, ②; ●, ③; ◇, ④; ○, ⑤.

様の方法で解析した。その結果を図 2 に示す。脾細胞膜の脂肪酸組成中での EPA, DHA の含有比率は, 脂肪乳剤投与開始後 3 日間ではほぼ平衡状態に達した。さらに, EPA, DHA 量は, 魚油配合量の増加とともに増加した。一方, 脾細胞膜中の AA 比率は時間経過とともにすべての群で低下し, その含有比率は魚油の含有量が多いほど低くなる傾向を示した。その結果, 抗炎症作用の指標とされる EPA/AA 比は, 投与する脂肪乳剤中の魚油の含有量の増加とともに増加した。

2. 急性肺炎における脂肪乳剤投与の効果

上記の結果を基に, ω-6/ω-3 比 2.3 で, 魚油含有比率 30% の脂肪乳剤を魚油製剤とし, 大豆油ベースの市販脂肪乳剤で ω-6/ω-3 比 10.0 である Intralipos® (大塚製薬工場) と比較解析した。

脾細胞における CD4 陽性細胞の割合は, 3 日後で無脂肪群が対照群に比べて有意に低値を示した (図 3)。

一方, 脾細胞における CD4/CD8 比 (図 3), Con A 刺激に伴う脾細胞幼若化能 (図 4) と Con A 無刺激での IL-2 産生 (図 5) は, 3 日, 5 日後で 4 群間に有意差を認めなかった。

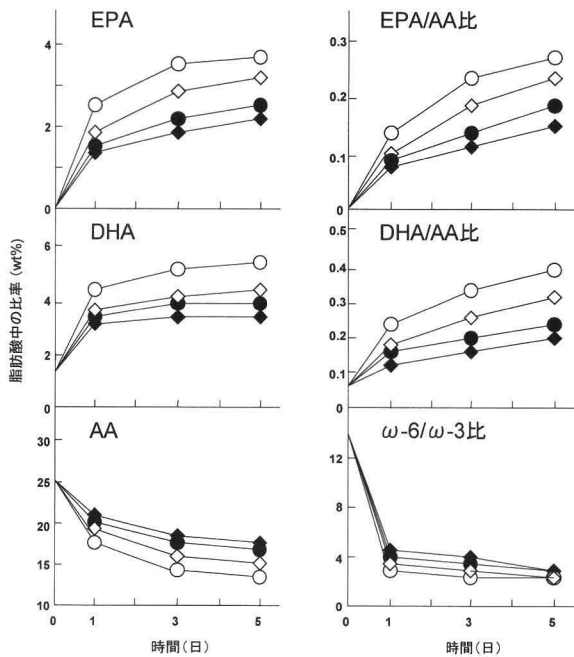


図2 魚油の配合比率を変化させた各種脂肪乳剤を添加した TPN 開始後のラット脾細胞膜のリン脂質構成の変化 (実験条件: 表2) 脾細胞膜の脂肪酸組成中のエイコサペンタエン酸 (EPA), ドコサヘキサエン酸 (DHA), アラキドン酸 (AA) 含有比率, EPA/AA 比, DHA/AA 比, ω-6/ω-3 比. TPN 中の脂肪乳剤組成 (表2中に提示): ◆, ⑥; ●, ⑦; ◇, ⑧; ○, ⑨.

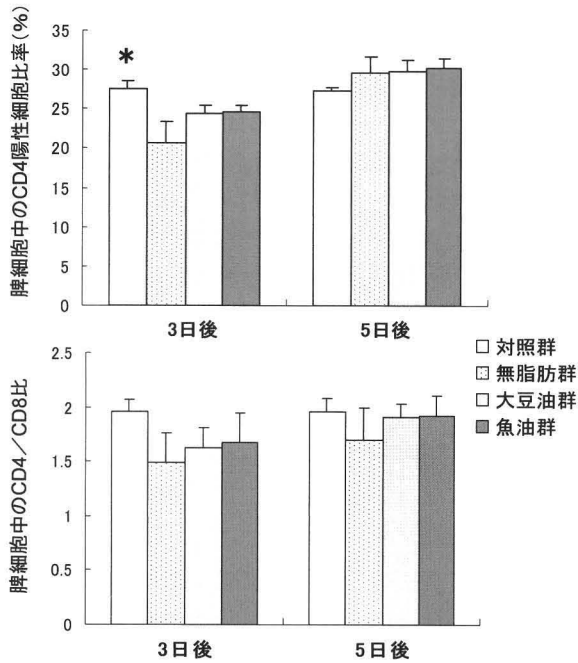


図3 脾細胞中の CD4 陽性細胞比率と CD4/CD8 比 膵炎作成 3, 5 日後に脾細胞を採取. *, $p < 0.05$ vs 3 日後の無脂肪群の CD4 陽性細胞比率.

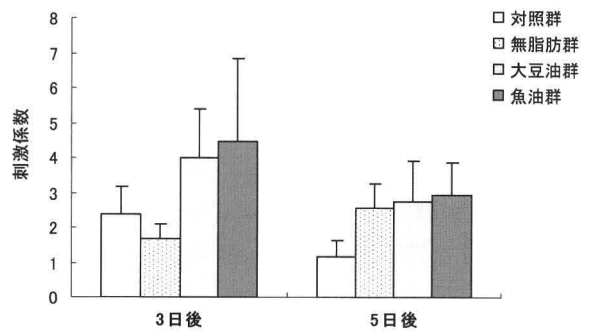


図4 脾細胞幼若化能 膵炎作成 3, 5 日後に脾細胞を採取. 刺激係数: con A 刺激サンプルの吸光度を培養液のみで培養した細胞の吸光度で除した値.

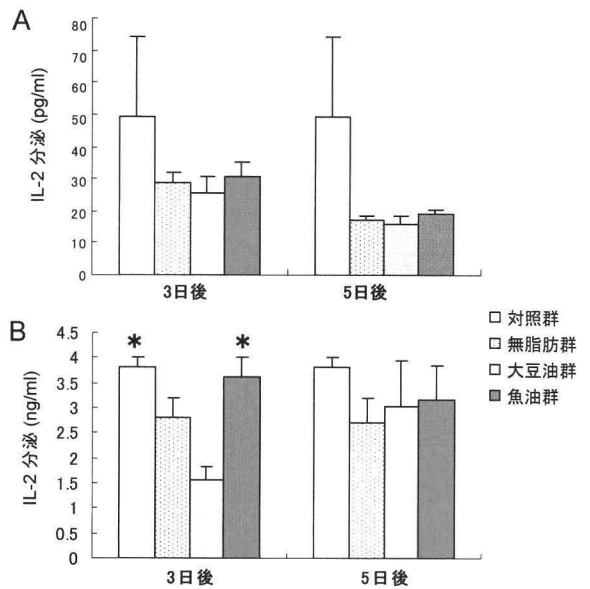


図5 脾細胞における IL-2 産生 膵炎作成 3, 5 日後に脾細胞を採取. A, Con A 無刺激. B, Con A 刺激下. *, $p < 0.05$ vs 3 日後の大豆油群.

しかし, Con A 刺激下での IL-2 産生 (図5) と IFN- γ 産生 (図6) は, 3 日後で対照群と魚油群が大豆油群に比べ有意に高値を示し, さらに, Con A 無刺激での IFN- γ 産生 (図6) は, 3 日後で対照群と魚油群が無脂肪群に比べ有意に高値を示した.

図7に脾細胞培養液上清中の IL-10 濃度を示す. Con A 無刺激での IL-10 産生は, 対照群と魚油群が他の群に比べいずれも高値を示し, 特に3日後では有意差を認めた. Con A 刺激下での IL-10 産生は, 重症急性膵炎を惹起した3群間に有意差を認めなかった.

血清中の IL-2, IFN- γ , IL-10 濃度は, 3日, 5日後において, 重症急性膵炎を惹起した無脂肪群, 大豆油群および魚油群との間に有意差を認めなかった.

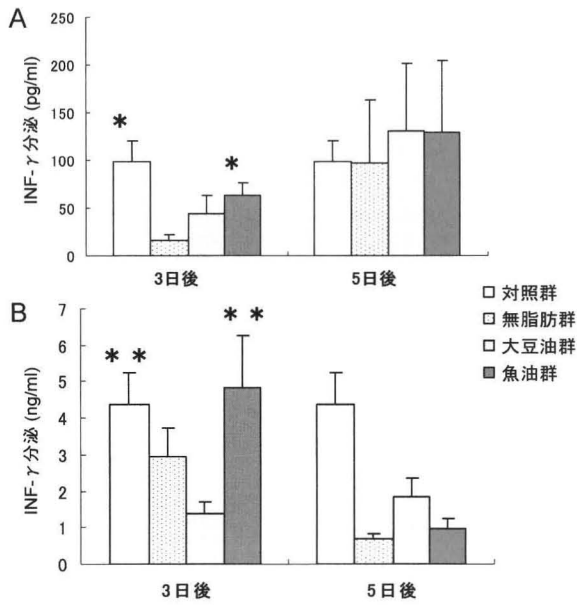


図6 脾細胞におけるIFN- γ 産生
 膵炎作成3, 5日後に脾細胞を採取。A, Con A 無刺激。B, Con A 刺激下。*, $p < 0.05$ vs 3日後の無脂肪群; **, $p < 0.05$ vs 3日後の大豆油群。

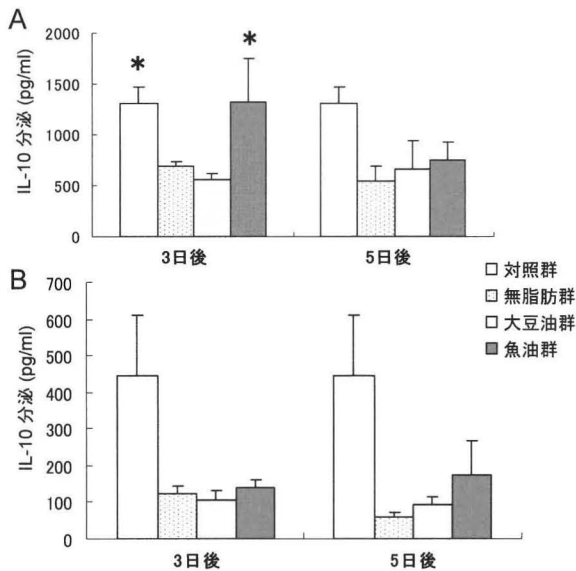


図7 脾細胞におけるIL-10産生
 膵炎作成3, 5日後に脾細胞を採取。A, Con A 無刺激。B, Con A 刺激下。*, $p < 0.05$ vs 3日後の無脂肪群と大豆油群。

た。

考 察

重症急性膵炎では、発症後期の感染合併が治療成績向上の隘路となっている。これまでに、重症急性膵炎では発症早期から免疫担当細胞であるリンパ球のアポトーシスをきたし^{9,10}、脾細胞やリンパ球の機

能低下が見られる¹¹⁻¹⁴など、免疫抑制状態にあることが報告されてきた。そこで感染源である腸管への対策として、早期からの経腸栄養開始や、経腸栄養とともに、腸粘膜栄養としてのグルタミン酸投与の有効性^{15,16}や、腸内細菌叢を変化させる prebiotics や probiotics 投与の有効性が報告されている¹⁷⁻¹⁹。また、ω-3系不飽和脂肪酸を含めた免疫賦活物質を添加したいわゆる免疫栄養製剤も経腸栄養剤として使用可能であり、重症急性膵炎における経腸栄養剤として臨床応用されつつある^{20,21}。

しかし、重症急性膵炎での発症早期には麻痺性イレウスのために腸管運動が障害されていることが多く、症例によっては腸管への直接的炎症波及から腸管狭窄や穿孔などの器質的障害を伴うこともあり、早期経腸栄養の施行は容易ではない。実際、わが国での重症急性膵炎症例における経腸栄養施行率はきわめて低いことが報告されている²²。そこで、経口や経腸経路ではなく、経静脈投与による免疫栄養療法の開発が急務となっている。

本研究では、重症急性膵炎などの経口摂取が困難な高度侵襲状態において、脂肪乳剤の経静脈投与による免疫賦活を得ることを目的として、新規にω-3系不飽和脂肪酸を添加した脂肪乳剤を開発し、その静脈内投与後早期より抗炎症効果の指標とされるEPA/AA比を増加させることが判明した。

Morlionらは、TPNとして魚油を投与した場合の血漿や細胞膜の脂肪酸組成への影響を報告しており、その変化は4日で平衡状態に達するとしている²³。一方、Adamsらは魚油の経口投与では、血漿中や赤血球膜のリン脂質中のEPA濃度は、経口摂取開始後7日目まで上昇を続けると報告している²⁴。このことは、経腸管的吸収経路と経静脈経路との代謝速度の差とともに、絶食の有無が関与している可能性がある。

実際、ω-6/ω-3比が2.3の魚油ベースの脂肪乳剤(大豆油:魚油=7:3)を重症急性膵炎モデルの作成直後に投与したところ、3日後には、IL-2やINF- γ 産生能の亢進が見られ、脾細胞の免疫反応が賦活され、抑制されたIL-10産生が回復していた。

今回、われわれが調整したω-3系不飽和脂肪酸を添加した脂肪乳剤(ω-6/ω-3=2.3)は、経静脈的に免疫賦活が可能な製剤であり、重症急性膵炎に臨床応用が可能と考えられる。実験膵炎では、腸内細菌のBacterial translocationは膵炎作成後1日以内に起こり、脾局所の感染もそれに引き続いて成立するが^{25,26}、実際の臨床例では、腸管透過性の亢進が膵炎発症後72時間前後に観察されており²⁷、脾および脾周辺組織への感染はその後に成立するものと考え

られる。したがって、膵炎発症直後から免疫賦活を目的とした脂肪乳剤投与を開始すれば重症急性膵炎に伴う感染成立、あるいは感染の重症化を阻止する可能性がある。

重症急性膵炎では、従来は脂肪製剤投与が膵障害を引き起こすことが危惧され使用が控えられた時期もあったが、最近では脂肪投与の重要性が再認識されている²⁸。本研究で使用したような、魚油を配合した脂肪乳剤を重症急性膵炎の発症早期から使用すれば、重症急性膵炎における有効な感染対策となる可能性があると考えられた。

謝 辞

本研究のご指導を賜りました、大柳治正教授に謹んで感謝の意を表します。

また、本研究の遂行にあたりご支援を賜りました大塚製薬工場の中山満雄先生、萩彰文先生に感謝申し上げます。

文 献

1. Marik PE, Zaloga GP (2008) Immunonutrition in critically ill patients: a systematic review and analysis of the literature. *Intensive Care Med* 34: 1980-1990
2. O'Callaghan G, Beale RJ (2003) The role of immune-enhancing diets in the management of perioperative patients. *Crit Care Resusc* 5: 277-283
3. Farber MS, Moses J, Korn M (2005) Reducing costs and patient morbidity in the enterally fed intensive care unit patient. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 29: S62-69
4. Kudsk K A (2006) Immunonutrition in surgery and critical care. *Annu Rev Nutr* 26: 463-479
5. Calder PC (2007) Immunonutrition in surgical and critically ill patients. *Br J Nutr* 98 Suppl 1: S133-139
6. Fearon KC, Von Meyenfeldt MF, Moses AG, Van Geenen R, Roy A, Gouma DJ, Giacosa A, Van Gossum A, Bauer J, Barber MD, Aaronson NK, Voss AC, Tisdale MJ (2003) Effect of a protein and energy dense N-3 fatty acid enriched oral supplement on loss of weight and lean tissue in cancer cachexia: a randomised double blind trial. *Gut* 52: 1479-1486
7. Wachira AM, Sinclair LA, Wilkinson RG, Enser M, Wood JD, Fisher AV (2002) Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *Br J Nutr* 88: 697-709
8. Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Takase K, Nishikawa J, Kuroda Y (2002) Functional alterations of splenocytes in severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 102: 161-168
9. Takeyama Y, Nishikawa J, Ueda T, Hori Y (1998) Thymic atrophy caused by thymocyte apoptosis in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 78: 97-102
10. Takeyama Y, Takas K, Ueda T, Hori Y, Goshima M, Kuroda Y (2000) Peripheral lymphocyte reduction in severe acute pancreatitis is caused by apoptotic cell death. *J Gastrointest Surg* 4: 379-387
11. Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Takase K, Nishikawa J, Kuroda Y (2002) Splenic atrophy in experimental severe acute pancreatitis. *PANCREAS* 24: 365-372
12. Uehara S, Gothoh K, Handa H, Tomita H, Tomita Y (2003) Immune function in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 18: 363-370
13. Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Ajiki T, Fujino Y, Suzuki Y, Kuroda Y (2006) Immunosuppression in patients with severe acute pancreatitis. *J Gastroenterol* 41: 779-784
14. Pietruczuk M, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiakowska U, Dabrowski A (2006) Alteration of peripheral blood lymphocyte subsets in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 12: 5344-5351
15. Foitzik T, Kruschewski M, Kroesen AJ, Hotz HG, Eibl G, Buhr HJ (1999) Does glutamine reduce bacterial translocation? A study in two animal models with impaired gut barrier. *Int J Colorectal Dis* 14: 143-149
16. Hallay J, Kovacs G, Szatmari K, Bako A, Szentkeresztzy Z, Lakos G, Sipka S, Sapy P. (2001) Early jejunal nutrition and changes in the immunological parameters of patients with acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 48: 1448-1492
17. Bengmark S (2003) Use of some pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17: 833-848
18. Olah A, Belagyi T, Poto L, Romics L Jr, Bengmark S (2007) Synbiotic control of inflammation and infection in severe acute pancreatitis: a prospective, randomized, double blind study. *Hepatogastroenterology* 54: 590-594
19. Karakan T, Ergun M, Dogan I, Cindoruk M, Unal S (2007) Comparison of early enteral nutrition in severe acute pancreatitis with prebiotic fiber supplementation versus standard enteral solution: a prospective randomized double-blind study. *World J Gastroenterol* 13: 2733-2737
20. Pearce CB, Sadek SA, Walters AM, Goggin PM, Somers SS, Toh SK, Johns T, Duncan, HD. (2006) A double-blind, randomised, controlled trial to study the effects of an enteral feed supplemented with glutamine, arginine, and omega-3 fatty acid in predicted acute severe pancreatitis. *JOP* 7: 361-371
21. Hegazi RA, O'Keefe SJ (2007) Nutritional immunomodulation of acute pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 9: 99-106
22. 竹山宣典, 木原 康, 大槻 眞 (2008) 消化管内除菌, 経腸栄養の方法と開始時期の検討. 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「難治性膵疾患に関する調査研究」平成19年度 総括・分担研究報告書, 大槻 眞, 東京, 株式会社アークメディア, 52-55
23. Morlion BJ, Torwesten E, Lessire H, Sturm G, Peskar BM, Fürst P, Puchstein C (1996) The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composi-

- tion and leukotriene-synthesizing capacity in patients with postoperative trauma. *Metabolism* 45: 1208-1213
24. Adams S, Yeh YY, Jensen GL (1993) Changes in plasma and erythrocyte fatty acids in patients fed enteral formulas containing different fats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 17: 30-34
25. Runkel NS, Moody FG, Smith GS, Rodriguez LF, LaRocco MT, Miller TA (1991) The role of the gut in the development of sepsis in acute pancreatitis. *J Surg Res* 51: 18-23
26. Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y (2006) Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 135: 18-26
27. Ammori BJ, Leeder PC, King RF, Barclay GR, Martin IG, Larvin M, McMahon MJ (1999) Early increase in intestinal permeability in patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure, and mortality. *J Gastrointest Surg* 3: 252-262
28. Kataoka K (2006) Specialized nutrition support corresponding to pathophysiological changes in acute and chronic pancreatitis. *J Kyoto Pref Univ Med*: 625-647