原 著

外科臨床におけるエンドトキシン血症の発来について

—とくに急性汎発性腹膜炎を中心として—

日本医科大学第1外科（指導：主任教授 代田明郎）

助手 滝 沢 隆 雄

THE CAUSES AND MECHANISMS OF ENDOTOXEMIA IN THE SURGICALLY TREATED PATIENTS, WITH SPECIAL REFERENCE TO ACUTE PERITONITIS

Takao TAKIZAWA

First Department of Surgery, Nippon Medical School

(Director: Prof. Akiro SHIROTA)

著者は細菌感染を有するか、あるいはまたその病態に細菌が一つの重要な役割を果たしていると思われる外科的消化器疾患におけるエンドトキシン血症の発現頻度を Limulus Test により検索すると、腹膜炎では34.9%で、腹膜炎以外の疾患の14.7%に比べて明らかに高率であった。さらに Limulus Test 陽性例の死亡率は38.9%で、陰性例の16.4%に比べて明らかに高い値を示し、とくに腹膜炎では陽性例が50%で、陰性例の21.9%に比べて著しく高い値を示した。

そこで、腹膜炎の死因におよぼす腸内細菌、とくにグラム陰性桿菌のエンドトキシンについての役割を明らかにするために、主として無菌動物を用いて実験的に研究した。

ICR系無菌マウスに腸管穿孔を起こすと、腹膜炎が惹起され、無菌群の生存時間は平均164時間であったのに対し、大腸菌単独汚染群の生存時間は無菌マウス群に比べて約1/6という短縮がみられた。無菌群の腹腔内と腸管内容は全く無菌であったが、大腸菌単独汚染群の腸管内容はもちろんであるが、腹水中からも大腸菌が full growth の状態ともいうことが出来る程の極めて大量が検出された。大腸菌単独汚染群では無菌群と異なり、血中にエンドトキシンが明らかに出現する事実が、抗エンドトキシン・ウサギ血清を用いた microtiter による感作血球凝集阻止反応によって確認された。

緒 言

イレウスや腹膜炎さらには急性閉塞性化膿性胆管炎患者に適切な外科的治療と十分な水分電解質の補給、大量の抗生物質投与などを行ない、安心していても患者が突然ショック状態に陥り、死亡することがある。

教室では、長年この死因を中心とする病態生理について、主として腸管内細菌を中心に臨床的に研究するとともに、有菌の普通動物や細菌の完全な欠除状態にある無菌動物を用いて実験的にも研究し、腸内細菌とくにグラム陰性桿菌の Endotoxin の血中への出現、増量がこれら患者のショックの重要な一因子であること

を立証、報告し、外科臨床におけるエンドトキシンショックの発来性について提唱してきた。

ところで上述血中エンドトキシンの立証には主として実験的に感作血球凝集阻止反応を使用したものであるが、近年血中エンドトキシン検出法として、カプトガニの血球成分を利用した Limulus Lysate Coagulation Test が1970年 Levin ら¹⁾により研究報告されて以来、本法は俄に臨床的に応用されるようになった。

そこで今回著者は、本法を用いて教室に入院手術した腹膜炎を中心とする消化器疾患患者のエンドトキシン血症（以下 ET 血症）について報告するとともに腹

膜炎の死因について主として無菌動物を用いて実験的に研究したので、その成績を報告する。

エンドトキシン血症に関する臨床的研究

I. 研究材料

1) 昭和49年1月より昭和55年5月迄の約6年間に教室に入院手術された消化器疾患患者のうち細菌感染を有するか、あるいはその病態に細菌が一つの重要な役割を果していると思われる158例の患者の血液について Limulus Test を行なった。

2) Limulus Lysate

(1) 国立福岡中央病院隅田幸男博士の好意により提供された九州産カプトガニ (Techplus Tridetatus) を用いて Rinhold-Fine²⁾の方法に準じて作成した Lysate を使用した。

(2) 日本産カプトガニより作製、市販されている Pregel[®] (帝国臓器 K.K) も一部使用した。

II. 研究方法

1) 血液前処置法

(1) クロロホルム法¹⁾

ヘパリン (1000単/ml) 0.75ml を含む注射器に無菌的に10ml を穿刺採血し、これを2,000r.p.m. 15分間遠沈、その血漿を検体として用いた。Levin¹⁾らの方法に準じてこの血漿の1ml に対してクロロホルム0.25ml を加えボーテックスミキサーで60分間強く攪拌した後、1,100g, 12分間遠沈後中間層を小試験管に採取、これを滅菌生理食塩水で倍数希釈し、その各々0.1ml を小試験管に採りこれに等量の Lysate を加え、37℃ 1時間恒温槽に静置後恒温槽より取り出し5分間室温に静置し判定した。ゲル化の不明瞭なものはさらに4時間後、24時間後再度判定した。

(2) 希釈加熱法³⁾

被検血漿を滅菌生理食塩水で希釈し100℃ 10分湯煎加熱後、この検体を3,000r.p.m. 5分間遠沈、その上清を小試験管に採取し滅菌生理食塩水にて倍数希釈、その各々を0.1ml 採取し、これに等量の Lysate を加えて判定した。

2) 判定方法

試験管を静かに45度～90度に傾斜しゲル化の有無を判定した。

(++) 強固なゲルを形成し傾斜しても水平面が崩れない状態

(+) ゲルを形成しているが傾斜すると一塊となつて動き水平面がやや崩れた状態

(±) 粗い顆粒状のゲルを形成し明らかに粘度の増

大がみられる状態

(-) 白濁のみか又は全然変化のない状態

(++)～(±)迄の反応を陽性とし、陽性を示した最大希釈倍数をもって end point とした。

実験器具はすべて180℃ 2時間乾熱滅菌して pyrogen free とし、測定時常き滅菌生理食塩水を対照として汚染による偽陽性を除外するとともに、 $10^{-1}\gamma/\text{ml}$ から $10^{-4}\gamma/\text{ml}$ の E. coli 0-26 エンドトキシン (Difco) 溶液を対照として、使用する Lysate の感度を測定し、 $10^{-3}\gamma/\text{ml}$ 迄検出し得る Lysate のみを使用した。

臨床的研究成績

I. 消化器疾患手術患者における ET 血症を中心とした細菌学的研究成績

1) 消化器疾患手術患者の血液 Limulus Test の成績

最近6年間に教室に入院手術された消化器疾患患者のうち細菌感染を伴ったもの、あるいはまたその病態に細菌が重要な役割を果していると思われる158例の血液 Limulus Test の成績は、表1に示すように36例 (22.8%) が陽性を示した。

これをさらに疾患別にみると、腹膜炎63例では、胃・十二指腸穿孔15例中2例 (13.3%)、小腸穿孔5例中2例 (40%)、虫垂炎穿孔12例中1例 (8.3%)、大腸穿孔8例中7例 (87.5%)、消化管縫合不全8例中2例 (25%)、胆道系穿孔15例中8例 (53.3%) で、腹膜炎全体では63例中22例 (34.9%) が陽性を示した。

表1 消化器疾患手術患者の血液リムルス・テスト成績

疾 患		例数	リムルス・テスト成績
			陽性例(率)
腹膜炎	胃・十二指腸穿孔	15	2 (13.3%)
	小 腸 穿 孔	5	2 (40.0%)
	虫 垂 穿 孔	12	1 (8.3%)
	大 腸 穿 孔	8	7 (87.5%)
	消化管縫合不全	8	2 (25.0%)
	胆 道 系 穿 孔	15	8 (53.3%)
	小 計	63	22*(34.9%)
	イ レ ウ ス	50	10 (20.0%)
	化膿性胆管炎	26	2 (7.7%)
	肝・横隔膜下膿瘍	11	1 (9.0%)
腹膜炎以外の疾患	そ の 他	8	1 (12.5%)
	小 計	95	14*(14.7%)
	合 計	158	36 (22.8%)

* $P < 0.01$

腹膜炎以外の疾患では、イレウス50例中10例(20%)、化膿性胆嚢炎26例中2例(7.7%)、肝・横隔膜下膿瘍11例中1例(9.0%)、その他8例中1例(12.5%)で、腹膜炎以外の疾患全体では95例中14例(14.7%)が陽性を示した。

すなわちET血症の出現頻度は、腹膜炎では34.9%で、腹膜炎以外の疾患の14.7%に比べて、明らかに高率($p<0.01$)で、腹膜炎のうちでもとくに大腸穿孔に基因する糞便性腹膜炎と、胆道系穿孔に基因する胆汁性腹膜炎が、それぞれ87.5%、53.3%で最も高い値を示した。

2) 消化器疾患手術患者の血液 Limulus Test と細菌検索成績

上述 Limulus Test を行なった消化器疾患手術患者158例中 culture bottle 法で血液細菌培養を行なったものは51例で、Limulus Test と血液細菌培養の成績をみると、Limulus Test 陽性36例のうち18例が血液細菌培養が行なわれ、3例(16.7%)が細菌陽性で、E. coli, Citrobacta freundii, Eubacterium 各1例が検出され、これらはすべて腹膜炎であった。

また Limulus Test 陰性122例のうちでは、33例に血液培養が行われ、8例(24.3%)が細菌陽性で Klebsiella 2例, E. coli, Proteus vulgaris, Eubacterium 各1例の他、グラム陽性菌3例が検出された(表2)。

すなわち、血液 Limulus Test と血中細菌検索成績との間には、明らかな相関関係は認められなかった。

3) 消化器疾患手術患者の血液 Limulus Test の成績と臨床症状

血液 Limulus Test を行なった消化器疾患手術患者の白血球数、発熱、ショック症状などの臨床症状と血

液 Limulus Test の成績との関係を見ると Limulus Test 陽性を示した36例では、10,000以上の白血球増多を示したものは18例(50%)で、Limulus Test 陰性122例中49例(40.2%)と比べて、この両者間にはそれほど顕著な差異はみられなかったが、体温38℃以上の発熱をきたしたものは、前者では12例(33.3%)、後者では20例(16.4%)で、発熱は Limulus Test 陽性例では陰性例に比べて明らかに高い値を示した($p<0.05$)。

また血圧が80mmHg以下でショック症状を呈したものは、前者では12例(33.3%)、後者では10例(8.2%)で、ショック症状を呈したものは Limulus Test 陽性例では陰性例に比べて明らかに高い値を示した($p<0.01$)。

すなわち、Limulus Test 陽性例では陰性例に比べて白血球増多の出現率は顕著な差異はみとめられなかったが、発熱とショック病状の発現率は明らかに高い値を示した(表3)。

4) 消化器疾患手術患者の血液 Limulus Test の成績と転帰に関する二、三の検討

消化器疾患手術患者158例中血液 Limulus Test が陽性を示した36例のうち14例が死亡し、死亡率は38.9%であったが、陰性を示した122例では20例が死亡し、死亡率は16.4%で、Limulus Test 陽性例では陰性例に比べて明らかに高い死亡率を示した($p<0.05$)。

さらに腹膜炎と腹膜炎以外の疾患についてそれぞれ比較してみると、腹膜炎63例中 Limulus Test が陽性を示した22例では11例が死亡し、死亡率は50%であったのに対し、陰性を示した41例では9例が死亡し、死亡率は21.9%で、Limulus Test が陽性を示したものは陰性例に比べ明らかに高い死亡率を示した($p<0.05$)。

表2 消化器疾患手術患者の血液リムルス・テストと細菌検索成績

リムルス・テスト	血液細菌検査		
	例数	陽性	菌種
陽性 36	18	3 (16.7%)	E. coli 1 C. freundii 1 Eubacterium 1
陰性 122	33	8 (24.3%)	Klebsiella 2 E. coli 1 Proteus vulgaris 1 Eubacterium 1 G(+)菌 3

表3 消化器疾患手術患者の血液リムルス・テストの成績と臨床症状

リムルス・テスト	例数	白血球増多 (10,000以上)	発熱 (38.0℃以上)	ショック (血圧80以下)
陽性	36	18 (50%)	12 ^{*)} (33.3%)	12 ^{*)} (33.3%)
陰性	122	49 (40.2%)	20 ^{*)} (16.4%)	10 ^{*)} (8.2%)

*1 $P<0.05$, *2 $P<0.01$

表 4 消化器疾患手術患者の血液リムルス・テストの成績と転帰

例 数	陽 性		陰 性	
	例数	死亡数	例数	死亡数
腹膜炎 63	22	11* ¹ (50%)	41	9* ¹ (21.9%)
腹膜炎以外の疾患 95	14	3 (21.4%)	81	11 (13.6%)
合 計 158	36	14* ² (38.9%)	122	20* ² (16.4%)

*¹ P<0.05 *² P<0.01

なお腹膜炎で血液 Limulus Test が陽性を示して死亡した上述11例の腹腔内膿汁からは、E. coli 8例、Proteus mirabilis 4例、Pseudomonas 3例のほかに Citrobacta freundii, Eubacterium, Seratia, K. pneumoniae Cl. perfringens 各1例とほとんどの例から E. coli を中心とするグラム陰性桿菌が検出された。

腹膜炎以外の疾患95例では、Limulus Test 陽性を示した14例では3例が死亡し、死亡率は21.4%であったのに対し、Limulus Test 陰性を示した81例では11例が死亡、死亡率は13.6%で、陽性を示したものは陰性を示したものに比べて高い死亡率を示したが、統計学的には有意の差は認められなかった(表4)。なお上述 Limulus Test 陽性を示した36例について血漿希釈倍率による本反応をみると、22例は被検血漿原液ですでに陽性を示したが、14例では陰性を示した。この14例では血漿を希釈していくに従って陽性を示し、いわゆる阻止帯を呈したが、これら症例のうち7例までが胆汁性膜腹炎であった。

さらに本反応の希釈倍率の end point と転帰との関係を見ると、512倍、256倍という高い値を示しているにもかかわらず生存している症例もあり、逆に1～8倍という低い値を示しているにもかかわらず死亡している症例もあり、また本反応強弱と転帰の関係をみても、(++)～(+)という強い反応を示してえるにもかかわらず生存している症例もあり、逆に(±)という弱い反応を示しているにもかかわらず死亡している症例もあり、本反応の希釈倍率の end point や反応の強弱と転帰との間には明らかな関係はみられなかった。

5) 症例提示

64歳男子 (S状結腸穿孔性腹膜炎)

20歳のとき急性腎炎、30歳のとき肺結核の既往があるほか家族歴にも特記すべきことはない。

昭和53年5月11日正午頃突然下腹部に激痛をきたし某医受診、その後疼痛は次第に増強してショック状態に陥り、翌12日正午、急性腹症の診断で当外科に紹介され入院した。

入院時患者は顔面蒼白、冷汗を呈し、舌は乾燥、厚い黄色の苔を衣し、脈拍頻数微弱、意識混濁、血圧は測定し得ない程のショック状態を呈していた、腹部は平坦、腹壁緊張高度で全般に著しい圧痛を呈した。

体温は35.7℃、赤血球数 460×10^4 、白血球数4,200、Ht 値44%、BUN 30mg/dl、Na 143mEq/L、K 3.5 mEq/L、Cl 122mEq/L、血液 Limulus Test は(++)強陽性、血液細菌培養陰性。

図1は本患者の術前、術後の臨床経過にしたがって血圧、脈拍数、体温、呼吸数などを示したものであるが、患者に輸血、輸液、抗生物質、副腎皮質ホルモン、昇圧剤の投与などを強力に行なってショック状態の改善をはかりながら急性汎発性腹膜炎の診断で開腹すると、腹腔内は糞便を混じた大量の膿汁に満たされ、これを吸引除去すると、S状結腸に多数の憩室を認め、その一つが炎症を起して穿孔これを切除し、全身状態はなほだ不良の為 Hartmann 手術を行なった。術後第6病日までドパミン、ノルアドレナリンなどの昇圧剤を使用しないと血圧を維持し得ないほどの高度の循環障害に加えて ARDS を併発し、レスピレーターの使用で酸素分圧をかりうじて保つほどの呼吸障害を呈した。その間 γ -グロブリン、トラジロールの投与、血小板輸血などを行ない、第7病日に至ってようやく血圧、呼吸が安定した。本症例では腹腔内膿汁から 10^8 というきわめて大量の E. coli が検出されたが、血液細菌培養は陰性を呈した。Limulus Test は術後第2病日まで(++)の陽性を示したが、第4病日以降は陰性となり、かりうじて一命を救助することができた。

腹膜炎に関する実験的研究

I. 実験材料

1) 無菌マウス

使用した無菌マウスはビニールアイソレーターを用いて飼育した JCL:ICR 系無菌マウスで、生後8週体重30～35g のものを雌雄の別なく使用した。

2) 使用培地

E. coli の検出には DHL 寒天培地(栄研)を使用した。

図1 S状結腸穿孔性腹膜炎 (症例 64歳 男)

II. 実験方法

1) 腹膜炎の作製法

ICR系無菌マウスを2群に分ち、1群は対照無処置群とし、他の1群はヒト糞便由来の E. coli-026(Difco) 菌液0.1ml (菌数約10⁹個) を金属カテーテルで経口的に接種、24時間定着せしめた単独汚染群とし、この両群をビニールアイソレーターの中で回腸末端より2cm上部の回腸を腸管膜血管を損傷しないように充分に注意して切断、穿孔性腹膜炎を惹起させた。

2) 実験動物の生存時間

上述のように腹膜炎を作製後ビニールアイソレーター内に放置し両群の生存時間をそれぞれ観察した。

3) 腸管内および腹水中の細菌数

腹膜炎作製後12時間と死亡時腹腔内に滅菌生理食塩水を2.0mlを注入してよく洗滌、洗滌液を採取、さらに十二指腸直下部の上部小腸管1.0cm採取、検量後ホモジナイズし10倍希釈系列を作製、腹水2.0ml、腸管内容1.0g当りの細菌数を算定した。

4) 血中 Endotoxin の検索法

抗エンドトキシン・ウサギ血清を作製し、感作血球凝集阻止反応により、血中の Endotoxin を検索した。

すなわち Microtitor を用いて、被検材料0.025mlに抗エンドトキシン・ウサギ血清0.025mlを加えて、37℃ 4時間 incubate し、一夜氷室に保存した後、pH7.2リン酸緩衝液(P.B.S.)で2倍希釈し、2%エンドトキシン感作血球をそれぞれ0.025mlずつ加えて37℃ 2時間 incubate した後、その凝集の有無を判定した。

(1) 抗エンドトキシン・ウサギ血清の作製法

E. coli 0-26Endotoxin (Difco) を1mg/mlとなるように滅菌生理食塩水に浮遊させ、その1mlを Freund's complete adjuvant に懸濁、3日毎に3回、体重1.5kgのウサギの腎筋に注射し、その後10γ/ml含有滅菌 E. coli 0-26Endotoxin 浮遊生理食塩水を1mlずつ週2回、2週間合計4回にわたり耳静脈より注射し、最終感作後10日目総頸動脈より全採血して実験に供した。

(2) 感作血球の作製法

2mg/mlの割合で E. coli 0-26 Endotoxin を含有す

る P.B.S. を 100℃ 2 時間煮沸滅菌後、これに滅菌 P.B.S. を加えて 100γ/ml エンドトキシン含有液とし、これに無菌ヒツジ血球を加えて、2% ヒツジ血球浮游液とし、37℃ 2 時間、振盪培養器を用いて incubate、その後 P.B.S. をさらに加えて 2,000r.p.m. 5 分間で 3 回洗滌後 P.B.S. に再浮游し、2% エンドトキシン感作血球浮游液を作製した。

腸管穿孔性腹膜炎における動物の生存時間、腹水および腸管内容の細菌学的研究成績と血中 Endotoxin の消長に関する研究成績

I. 腹膜炎動物の生存時間

無菌群の生存時間は最短 158 時間、最長 170 時間、平均 164 時間であったのに対し、大腸菌単独汚染群では最短 20 時間、最長 34 時間、平均 26 時間で、大腸菌単独汚染群の生存時間は無菌マウス群のそれに比べ約 1/6 という短縮がみられた (図 2)。

II. 腸管内容および腹水中の大腸菌数

無菌群の腹腔内と腸管内容は対照無処置群と同様に全く無菌であったが、大腸菌単独汚染群では腸管内容中の大腸菌数は、腸管穿孔前すでに $1.1 \times 10^8 \sim 5.6 \times 10^8$ 個と full growth の状態にあり、腸管穿孔後死亡時にも $2.1 \times 10^8 \sim 1.6 \times 10^{10}$ 個と同様に極めて大量が検

図 2 小腸穿孔性腹膜炎大腸菌単独汚染マウスの生存時間

表 5 大腸菌単独汚染マウス群の上部小腸管内大腸菌数

成績 マウス番号	菌 数
No. MG 1	1.1×10^8
No. MG 2	4.3×10^{10}
No. MG 3	1.6×10^{10}
No. MG 4	5.6×10^{10}
No. MG 5	2.5×10^{10}

表 6 大腸菌単独汚染マウス群の穿孔性腹膜炎死亡時の上部小腸管内大腸菌数

成績 マウス番号	菌 数
No. GH 1	4.1×10^8
No. GH 2	2.1×10^8
No. GH 3	1.5×10^{10}
No. GH 4	5.2×10^8
No. GH 5	1.6×10^{10}

表 7 大腸菌単独汚染マウス群の穿孔性腹膜炎死亡時の腹水中大腸菌数

成績 マウス番号	菌 数
No. MP 6	1.6×10^{10}
No. MP 7	2.1×10^8
No. MP 8	4.6×10^{10}
No. MP 9	2.7×10^{10}
No. MP 10	8.1×10^9

出されたばかりでなく、腹水中からも $2.1 \times 10^8 \sim 4.6 \times 10^{10}$ 個と大量が検出された (表 5, 6, 7)。

III. 血中 Endotoxin の消長

無菌群と大腸菌単独汚染群の血清について Endotoxin の消長を追求すると、無菌群では死亡時でも

表 8 小腸穿孔性腹膜炎マウスの血中エンドトキシンの消長

検 査 値		X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
対 照		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
大腸菌 単独汚染 マウス群	死亡時	No.GP1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.GP2	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.GP3	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.GP5	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
大腸菌 単独汚染 マウス群	12時間後	No.MP1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.MP3	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.MP5	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.MP6	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
マウス群	死亡時	No.MP7	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.MP8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
		No.MP9	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

対照とはほぼ同様に1,536倍であったが、大腸菌単独汚染群では腸管穿孔後12時間、死亡時ともに48～192倍で、いずれも著しく低下した（表8）。

すなわち大腸菌単独汚染群では無菌群と異なり腸管が穿孔、腹膜炎を惹起すると血中に Endotoxin が明らかに出現する事実が確認された。

考 察

近年抗生物質の著しい研究開発にともなって細菌感染症は大きくその様相を異にし、従来しばしばみられたグラム陽性菌による感染症は減少の一途をたどり、既存の抗生物質に対して強い抵抗を示すグラム陰性菌、とくに桿菌による重傷感染症が激増していることはすでに周知の事実であるが、Weil ら⁴⁾がグラム陽性菌の敗血症性ショックでは43%死亡したのに対して、グラム陰性菌の敗血症性ショックでは90%とその大半が死亡したと報告しているように、今日外科実地臨床上本菌による敗血症ないしはET血症が極めて重大な問題として注目されている。

私どもの教室では、長年にわたる腸管内細菌を中心とした一連の臨床的ならびに実験的研究を行なって、イレウス^{5)~11)}や腹膜炎^{12)~14)}、さらには重症胆道感染症^{15)~17)}などのさい、しばしば遭遇する重篤なショックの発来には大腸菌を中心とするグラム陰性桿菌の Endotoxin の血中への出現が1つの極めて重要な役割を果たしていることを立証報告してきたが、最近6年間に教室に入院、手術された消化器疾患患者のうち細菌感染を有するか、あるいはまたその病態に細菌が一つの重要な役割を果たしていると思われる158例の血液 Limulus Test を行なった成績をみると、血中 En-

dotoxin が検出されたものは36例(22.8%)で、これを疾患別にみると腹膜炎63例では22例(34.9%)、腹膜炎以外の疾患95例では14例(14.7%)で、腹膜炎では腹膜炎以外の疾患に比べて明らかに高率を示し、腹膜炎のうちでもとくに大腸穿孔による糞便の漏出と、胆石症を中心とする胆道疾患の穿孔による汚染された胆汁の漏出に基因する腹膜炎がそれぞれ85.4%、53%と最も高かった。腹膜炎以外の疾患ではイレウスが50例中10例(20%)で最も高い値を示した。

ところで近年本邦に於いて、消化器疾患におけるET血症の検索成績が多数報告されているが、それらのうち大部分は腹膜炎あるいは胆道感染症に高い陽性率がみられたと述べている。

水野¹⁸⁾はET血症を疑わせしめた62例に血液 Limulus Test を施行し、33例が陽性で、それらの中で縫合不全に伴う汎発性腹膜炎(14例)および胆道感染症(11例)にET血症が多く認められ、前者は病態が重篤で死亡率が高かったと述べており、川山¹⁹⁾も血液 Limulus Test により121例中85例に臨床的ET血症を証明したが、腹部外科領域では胆道感染例や消化管穿孔、縫合不全など腹膜炎、腹腔内膿瘍例などにET血症が多くみられ、腹膜炎ではとくに予後が不良であると述べている。

高尾ら²⁰⁾は急性腹症125例に血液 Limulus Test を行ない、45例にET血症を証明し、これらのうち穿孔性腹膜炎症例では、外科的治療により Limulus Test が陰性化する例が多いと述べており、土屋ら²¹⁾は228例の患者について計433回に血中 Endotoxin の検出を試み、97例に Endotoxin を証明したが、感染症疾患では胆道感染、腹膜炎が主なものであり、腹膜炎では55例中19例が陽性でそのうち8例が死亡し、胆道感染症に比べてET血症の発生率は低い、予後は極めて悪いと述べている。

ところでET血症と血中細菌との関係を見ると、ET血症18例中血中に細菌の検出されたものは僅かに3例で、しかもこのうち1例はグラム陽性菌であり、ET血症を呈しなかった33例では、血中に細菌の検出されたものは8例あり、これら8例のうち4例がグラム陰性菌で、ET血症と菌血症とは必ずしも一致しなかった。Levin ら²²⁾も281例のグラム陰性菌敗血症の疑われた症例について血中 Endotoxin と血中細菌を検討し、ET血症を呈したものが14%、菌血症を呈したものが18%、ET血症を呈したもののなかで菌血症の証明されたものは僅かに7%にすぎず、ET血症と菌血症と

は必ずしも一致しないと述べているが、ころらの事実
は血中 Endotoxin は血中に出現した細菌に由来する
ものではないことを示すものと考えられる。

つぎに ET 血症を呈したものと呈しなかったものの
両群について白血球数、発熱、ショック症状などの臨
床症状を比較すると、10,000以上の白血球数増多を示
すものは両群の間に顕著な差異はみられなかったが、
体温38℃以上の発熱をきたしたものは前者では
36.1%、後者では16.4%、血圧が80mmHg 以下で
ショック症状を呈したものは前者では33.7%、後者で
は8.2%で、ET 血症を呈したものでは呈しなかったも
のに比べて発熱とショック症状の発現率は明らかに高
い値を示した。

またこの両群の転帰を比較してみると、前者では死
亡率が38.9%であったが、後者では16.4%で、ET 血症
を呈したものは、呈しないものに比べて死亡率が明ら
かに高い値を示した。

さらにこれを腹膜炎と腹膜炎以外の疾患に分けてそ
れぞれ比較してみると、腹膜炎では ET 血症を呈した
ものは死亡率が50%であったのに対し、ET 血症を呈
しないものでは21.9%で、ET 血症を呈したものでは、
呈しないものに比べて明らかに高い死亡を示した。な
お ET 血症を呈して死亡した腹膜炎患者の腹腔内膿汁
のほとんどの例から E. coli を中心とするグラム陰性
桿菌が検出された。

腹膜炎以外の疾患では、ET 血症を呈したものの死
亡率は21.4%、呈しなかったものでは13.6%で、ET 血
症を呈したものでは、呈しなかったものに比べて高い
値を示したが、統計学的にはこの両群の間には腹膜炎
患者におけるほどの顕著な差はみられなかった。

なお Limulus Test を行なうにあたっては前処置と
して血中阻害物質の除去操作としてクロロホルム法¹⁾
あるいは希釈加熱法²⁾を行なっているが、ET 血症を呈
した36例について血漿希釈倍率による Limulus Test
の反応をみると、25例は被検血漿原液で陽性を示した
が、11例では陰性を示し、この11例では血漿を希釈し
ていくに従って陽性を示し、いわゆる阻止帯を呈した。

玉熊ら²³⁾は in vitro の実験で胆汁に含まれる主な
抱合胆汁酸である Tauro 並びに Glycochenodeoxy
cholic acid が本反応を抑制すると報告し、黄疸血では
非黄疸血と同じ方法では false negative になりやすい
と述べているが、私の上述阻止帯の認められた11例中
7例までが胆道疾患の穿孔による腹膜炎で、黄疸血で
あった。

さらにまた、この希釈倍率の end point と転帰との
関係をみると256—512倍という高い値を示しているに
もかかわらず生存しているもの、逆に1—8倍と低い
値を示しているにもかかわらず死亡しているものも
あり、また本反応の強弱と転帰もとの関係をみても
(++)~(+)という強い反応を示しているにもかかわらず
生存しているものもあり、逆に(±)という弱い反応
を示しているにもかかわらず死亡しているものもあり、
本反応の血漿希釈倍率の end point や反応の強弱
と転帰との間には明らかな関係はみられなかった。

すなわち Limulus Test の陽性頻度は症状ないしは
転帰と極めて相関したが、本法の血漿希釈倍率の end
point や反応の強弱と転帰との間には一定の関係はみ
られず、本法は血中 Endotoxin の定量法としての意義
は認め難かったが、定性反応としての意義は充分ある
ものと考えられる。

以上は細菌感染を有するか、あるいはまたその病態
に細菌が一つの重要な役割を果しているものと考えら
れる外科的消化器疾患手術患者における ET 血症を中
心とした細菌学的研究成績であるが、これらの研究成
績より腹膜炎、とくに大腸穿孔による糞便の漏出と、
胆石症を中心とする胆道系疾患の穿孔による胆汁の漏
出にもとづく腹膜炎に ET 血症を呈するものが多く、
これらの症例においては症状も激烈で、死亡率が著し
く高いばかりでなく、これら死亡例の腹腔内膿汁から
はいずれも E. coli を中心とするグラム陰性桿菌が検
出された事実は、これら細菌の腹腔内感染と血中 En-
dotoxin の出現が腹膜炎の病態ないしは死因において
一つの極めて重要な役割をはたしていることを示すも
のと思われた。

そこで無菌動物を用いて実験腹膜炎における ET 血
症の発来を中心として以下述べるような一連の研究を
行なった。

無菌マウスを雌雄の別なく2群に分ち、1群は対照
無処置群とし、他の1群はヒト糞優由来の E. coli 0
—26 を単独汚染させて24時間後、アイソレーターの中
でこの両群に腸管穿孔性腹膜炎を惹起させて、この
両群の生存時間を追求するとともに、穿孔後12時間と
死亡時の腹水および腸管内容中の大腸菌数と血中 En-
dotoxin の消長を追求した。

その成績によると、無菌群の生存時間は最短158時
間、最長170時間、平均164時間であったのに対し、大
腸菌単独汚染群では最短20時間、最長34時間、平均26
時間で、大腸菌単独汚染群の生存時間は無菌マウス群

のそれに比べて約1/6という短縮がみられた。

このような両群の著しい生存時間の差異は大腸菌の汚染の有無によるものと判断せざるをえない。

そこでこれら両群の腹水と腸管内容における細菌検索を行なうと、無菌群の腹腔内容と腸管内容はまったく無菌であったが、大腸菌単独汚染群では腸管内容中からはもちろんではあるが、腹水中からも full growth の状態ともいうことが出来るほどの極めて大量の大腸菌が検出された。

さらにまた、無菌群と大腸菌単独汚染群の血液について抗エンドトキシン・ウサギ血清を用いて microtiter により感作血球凝集阻止反応を行なって血中 Endotoxin の消長を追求すると、大腸菌単独汚染群では無菌群と異なり、腸管が穿孔、腹膜炎を惹起すると血中に Endotoxin が明らかに出現する事実が確認された。

以上無菌マウスを用いた実験的研究成績は上記の臨床的研究成績と照合して、E. coli を中心とするグラム陰性桿菌の腹腔内感染と血中 Endotoxin の出現が、腹膜炎の病態ないしは死因においても一つの重要な役割をはたしている事実を明瞭に立証し得たものということができよう。

ところで Fine²⁴⁾ (1960) は、イレウス患者における最初の大きな変化は通常水分および電解質平衡の破綻で、もしすみやかに診断し、これに適切な外科的手術を加えて水分電解質平衡を修復するならば、イレウスの病態は速かに改善されるものであるが、このような患者が腸管穿孔による腹膜炎をおこしていなくても突然重篤なショック状態に陥ることがあり、このような場合はグラム陰性の腸内細菌の Endotoxin がショックの原因で、このようなショックは嵌頓ヘルニアを還納した直後にかなりの患者におきると述べている。

この Fine²⁵⁾²⁶⁾ (1957, 58) のエンドトキシン説は外傷性ショックで死亡する場合、その毒素の由来する全身なしは局所感染がなくても、グラム陰性の腸内細菌の Endotoxin が門脈を経て侵入し、生体とくに肝の防衛能力が障害されていると、この Endotoxin が全身循環に侵入し、ET 血症がおこり、アドレナリン系との関係のもとにショックを不可逆にするというのであって、Fine²⁶⁾ はさらにつぎのように述べている。

すなわち p³² で標識した大腸菌を腸管内に投与すると不可逆ショック時にのみ Endotoxin が証明される。またショックの臨界期にある動物に Endotoxin を含む血液を輸血すると不可逆相に移行する。非吸収性抗

生物質の腸管内投与がショックの進行を防止しうることともエンドトキシン説を支持する。解毒機能は網内系で行なわれ、ショックより回復直後のウサギは Endotoxin に対し10万倍も敏感で、それだけ解毒機能の低下が窺われるということである。

さらに Cuevas Fine²⁷⁾ らは、ウサギを用いて各種の細菌性、非細菌性腹膜炎を作製し、血中ならびに腹水中の細菌と Endotoxin の消長を検討して、血中に出現する Endotoxin の主な発生源は腹腔内に増殖した細菌ではなく、腸管内に増殖した細菌で、この細菌から遊離した Endotoxin が腸管を通して腹腔内に出現し、さらに腹膜を介して血中に出現すると述べている。

他方 Endotoxin の門脈血中への出現に関しては、すでに内外諸家^{28)~32)}により多数報告されているところであって、とくに Jacob³²⁾ は各種疾患により開腹術を受けた患者の門脈血を手術中採取、細菌学的検索を行なうと同時に Limulus Test を行ない、細菌は11例中1例に E. coli を証明したのみであったが Limulus Test は33例中32例が陽性を示し、Systemic endotoxemia 30例中4例に比べて著しく高頻度であり、種々の文献的考察を加えてこれら Limulus Test 陽性例は false positive の可能性はなく、すべて portal endotoxemia であると結論し、肝におけるエンドトキシンが処理能力をはるかに上まわるほどの Endotoxin が大量であったり、また肝障害などによってこの処理能力が低下していると、Endotoxin が少量であっても肝を通り Systemic endotoxemia が生ずると述べている。

以上の臨床的ならびに無菌動物を用いた実験的研究成績より腹膜炎の死因ないしは病態に腸管内細菌とくに大腸菌の Endotoxin の血中への出現が一つの重要な役割を果していることを立証し得たものと考える。

む す び

以上外科臨床におけるグラム陰性菌感染症、とくに ET 血症の発生について、腹膜炎を中心とする臨床的ならびに実験的研究成績を基として述べたのであるが、これを一括すると次のようである。

I. 1) 細菌感染を有するか、あるいはまたその病態に細菌が一つの重要な役割を果していると思われる外科的消化器疾患における ET 血症の発現頻度を Limulus Test により検索すると、腹膜炎では34.9%で、腹膜炎以外の疾患の14.7%に比べて明らかに高率で、腹膜炎のうちでとくに大腸穿孔による糞便の漏出と、胆石症を中心とする胆道疾患の穿孔による細菌で

著しく汚染された胆汁の漏出に基因する腹膜炎がそれぞれ87.5%、53.3%と最も高い値を示した。

2) Limulus Test と血中細菌検索成績との間には、明らかな相関関係は認められなかった。

3) 血液 Limulus Test 陽性例では陰性例に比べて白血球数増多の出現率は顕著な差異は認められなかったが、発熱とショック症状の発現率は明らかに高い値を示した。

4) Limulus Test 陽性例の死亡率は38.9%で、陰性例の16.4%比べて明らかに高い値を示し、とくに腹膜炎では陽性例が50%で、陰性例の21.9%に比べて著しく高い値を示した。なおこれら腹膜炎死亡例の腹腔内膿汁からはいずれも E. coli を中心とするグラム陰性桿菌が検出された。

5) 血液 Limulus Test 陽性例における本反応の血漿希釈倍率と end point や反応の強弱と転帰との間には明らかな関係はみられなかった。

II. ICR 系無菌マウスを用いた実験において腸管穿孔により腹膜炎が惹起されると、

1) 無菌群の生存時間は最短158時間、最長170時間、平均164時間であったのに対し、大腸菌単独汚染群では最短20時間、最長34時間、平均26時間で、大腸菌単独汚染群の生存時間は無菌マウス群のそれに比べ約1/6という短縮がみられた。

2) 無菌群の腹腔内と腸管内容は全く無菌であったが、大腸菌単独汚染群の腸管内容はもちろんであるが、腹水中からも大腸菌が full growth の状態ともいうことが出来るほどの極めて大量が検出された。

3) 大腸菌単独汚染群では無菌群と異なり、血中に Endotoxin が明らかに出現する事実が、抗エンドトキシン・ウサギ血清を用いた microtitor による感作血球凝集阻止反応によって確認された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師代田明郎教授と恩田昌彦助教授に深謝致します。

なお本論文の要旨は、第74回日本外科学会、第1回エンドトキシン臨床研究会において発表した。

文 献

- 1) Levin, J., Tomasulo, P.A. and Oser, R.S.: Detection of endotoxin in human blood and demonstration of an inhibitor. *J. Lab. Clin. Med.*, 75: 903—911, 1970.
- 2) Reinhold, R.B. and Fine, J.: A technique for quantitative measurement of endotoxin in human plasma. *P.S.E.B.M.*, 137: 334—340, 1971.
- 3) Cooperstock, M.S., Tucker, R.K. and Baublis, J.

V.: Possible pathogenikrole of endotoxin in Meyers syndrom. *Lancet*, 1: 1272—1274, 1975.

- 4) Weil, M.H. and Shubin, H.: *Diagnosis and treatment of shock*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1967.
- 5) 代田明郎, 横田秀雄, 恩田昌彦ほか: イレウスの死因を中心とする病態生理に関する研究一時に無菌動物を使用して一, 最新医学, 24 (6): 1314—1323, 1969.
- 6) 代田明郎, 横田秀雄, 恩田昌彦ほか: 無菌動物を使用したイレウスの研究, 臨床外科, 25: 1583—1588, 1970.
- 7) 代田明郎, 大川共一, 恩田昌彦ほか: 外科臨床に於けるエンドトキシンショックの発来性について—とくにイレウスを中心として—, 外科治療, 26: 10—13, 1972.
- 8) 代田明郎, 足立憲治, 宮下正雄ほか: 外科臨床に於けるエンドトキシンショックの発来性とその対策, 日外会誌, 73: 1160—1163, 1971.
- 9) 代田明郎, 三樹 勝, 大川共一ほか: イレウスの lathal agent; とくに細菌性因子について, 最新医学, 27: 1172—1183, 1972.
- 10) 代田明郎: イレウスショックとエンドトキシン, 日外会誌, 77: 463—469, 1976.
- 11) Shirota, A., Yokota, H., Hattori, H., et al.: Experimental studies on acute strangulated intestinal obstruction in germfree animals. *Inter. Surg.*, 53: 223—229, 1970.
- 12) 恩田昌彦, 天野 汎, 青木博美ほか: 腹膜炎ショックに関する臨床的並びに実験的研究, 日外会誌, 75: 1083—1084, 1974.
- 13) 代田明郎, 三樹 勝, 大川共一ほか: 腹膜炎手術死亡例の検討とその対策, 日本医事新報, 2621: 8—13, 1974.
- 14) 代田明郎, 三樹 勝, 大川共一ほか: 急性腹膜炎もエンドトキシンショック, 腹膜炎ショックに対するわれわれの考え方と対策, 外科, 35: 368—377, 1973.
- 15) 代田明郎, 森山雄吉, 足立憲治ほか: エンドトキシン血症の発来について—とくに急性閉塞性化膿性胆管炎における胆管由来の細菌性因子と腸管由来の経門脈的細菌性因子に関する研究成績を中心として—, 最新医学, 35: 485—496, 1980.
- 16) 代田明郎, 三樹 勝, 吉岡正智ほか: 急性(閉塞性化膿性)胆管炎とエンドトキシン, 胆と脾, 3: 715—724, 1982.
- 17) 代田明郎, 山下精彦, 足立憲治ほか: 腸管由来の経門脈的細菌性因子一時に内因性エンドトキシン血症の発来機構一, 日本医事新報, 2974: 23—31, 1980.
- 18) 水野 章: 感染症とリムラステスト, 名市大医誌, 28: 1139—1163, 1977.

- 19) 川山照雄：エンドトキシン血症の実験的・臨床的研究，札幌医誌，49：602—618，1980.
- 20) 高尾資郎，帆刈睦男，高場利博：Limulus-Test からみた急性腹症の臨床経過—とくに Endotoxin 血症を中心として—，日臨外医学会誌，41：258—269，1980.
- 21) 土屋周二，嶋田 紘：外科とエンドトキシンショック，外科診療，21：137—147，1979.
- 22) Levin, J., Poore, T.E., Young, N.S., et al.: Gram-negative sepsis: Detection of endotoxemia with the limulus test. *Ann. Int. Med.*, 76: 1—7, 1972.
- 23) 玉熊正悦，磯山 徹，石山 賢ほか：閉塞性黄疸とエンドトキシン血症，外科治療，38：375—380，1978.
- 24) Fine, J.: The cause of death in acute intestinal obstruction. *Surg. Gyne. Obst.*, 110: 628—630, 1970.
- 25) Fine, J.: The bacterial factor in experimental, In shock and circulatory, homeostasis, transaction of fifth conferenced, by H D Green. Tosiah Mayces Jr. Foundation, New York. 1957. P. 37—47.
- 26) Fine, J.: The role of the intestine in traumatic shock. *Am. J. Gastroenterol.*, 29: 596—603, 1948.
- 27) Cuevas, P. and Fine, J.: Role of intraintestinal endotoxin in death from peritonitis. *Surg. Gyne. Obst.*, 134: 953—957, 1972.
- 28) 多羅尾和郎，遠藤 修，池内孝夫ほか：肝硬変症におけるエンドトキシンの研究（第 I 報），肝硬変患者の腹水中のエンドトキシンについて，日消誌，73：1366—1371，1976.
- 29) 山本祐夫，門奈丈之，藤山 進ほか：肝・胆道疾患に合併したエンドトキシン血症の臨床病理学的検討，エンドトキシンの基礎と臨床，第 1 回エンドトキシン臨床研究会記録，羊土社：69—75，1979.
- 30) 玉熊正悦：Refractory shock と肝・門脈系の役割，臨床外科，24：13—20，1969.
- 31) 嶋田 紘：門脈 endotoxin 血症とその意義，医学のあゆみ，105：20—22，1978.
- 32) Jacob, A.J., Goldberg, P.K., Bloom, N., et al.: Endotoxin and bacteria in portal blood. *Gastroenterol.*, 72: 1268—1270, 1977.