

肝疾患とエンドトキシン

大元 謙治, 山本晋一郎, 平野 寛

エンドトキシン (Et) と肝疾患の研究は三つの発見によって進歩してきた。まず第一に、1892年に Pfeiffer がコレラ菌から耐熱性毒素を見だし、Et と名付け研究が開始された。最近になって Et の分子構造が解明され、多彩な生物活性を治療に応用する試みがなされている。第二には1970年に Levin らによりカプトガニ血球抽出物を用いたリムルステストが創案され、Et の検出法として広く用いられることとなった。第三には1972年 Caridis らは重症肝疾患例に敗血症を伴わない Et 血症を認め、内因性 Et と肝疾患との関係が注目されるようになった。

肝疾患での内因性 Et 血症の成因として、RES 機能低下、肝実質細胞の Et 処理能の低下、肝側副血行路の発達、腹膜からの Et 吸収の亢進、腸内細菌叢の変化、腸粘膜からの Et 吸収の亢進、Et 不活化因子 (EIF) の低下等が想定されている。一方、肝障害の成因として、Et による直接の肝障害のほか、Shwartzman 反応の関与、Et 血症に伴う肝循環障害や補体、プロスタグランジンの関与、さらに Et により刺激された Kupffer 細胞による肝障害等が示唆されている。このように、内因性 Et が肝障害の促進因子か、または肝障害の結果として内因性 Et 血症がみられるのかは、いまだ明らかではない。

最近、合成発色基質を用いた定量的リムルステストが開発され、Et の研究の新しい展開を迎えた。肝障害が進展するに伴って、血中 Et の上昇と細網内皮系 (RES) 機能低下が認められ、また肝細胞癌に対する肝動脈塞栓術後にも同様の変動がみられている。

今後は、Et の有用な生物活性を生かした合成化合物の研究、内因性 Et の本態および肝疾患との因果関係について多角的な検討が望まれる。(昭和64年1月4日採用)

Liver Disease and Endotoxin

Kenji Ohmoto, Shinichiro Yamamoto and Yutaka Hirano

Three important discoveries have done much to advance the study of endotoxin and liver diseases. In 1892, Pfeiffer found a heat-stable toxin in *Vibrio cholerae* and gave it the name "endotoxin". Then, in 1970, Levin developed a limulus test using amoebocyte lysate from the horseshoe crab which has been widely used for the detection of endotoxin. Finally, in 1972, Caridis reported the occurrence of endotoxemia without sepsis in cases of severe liver dysfunction and called the condition "endogenous endotoxemia".

It has been suggested that endogenous endotoxemia in liver diseases may be caused by (1) a decrease in reticuloendothelial function, (2) a decrease in

antitoxic function in liver parenchymal cells, (3) well-developed hepatic collateral circulation, (4) an increase in the peritoneal uptake of endotoxin, (5) an increase in intestinal flora, (6) an increase in intestinal absorption of endotoxin, or (7) a decrease in endotoxin inactivating factor. While it has been proposed that liver injury is caused by (1) the direct cytotoxicity of endotoxin, (2) the hepatic Shwartzman reaction, (3) hepatic circulatory disturbance, (4) activation of complements, (5) activation of prostaglandins due to endotoxemia, or (6) the liver cytotoxic factor produced by Kupffer cells in reaction to endotoxin, at present, it is uncertain whether endogenous endotoxemia itself is a deteriorating factor in liver dysfunction or merely a concomitant phenomenon resulting from liver dysfunction.

Recently, a quantitative endotoxin assay using chromogenic substrate with a perchloric acid pretreatment has been widely used. Increases in blood endotoxin and decreases in reticuloendothelial function have been proven in cases of progressive liver dysfunction and hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial embolization.

The chemical structure of endotoxin has recently been elucidated and therapeutic trials have been carried out using synthetic endotoxin analogs. It is expected that further progress will be made in these trials and the nature of endogenous endotoxin will be elucidated. The relationship between endogenous endotoxemia and liver diseases requires further investigation. (Accepted on January 4, 1989) *Kawasaki Igakkaishi* 15(2): 189-208, 1989

Key Words ① Liver diseases ② Endotoxin ③ Reticuloendothelial function
④ Transcatheter arterial embolization (TAE) ⑤ Kupffer cell

はじめに

エンドトキシン (Et) の研究は、1892年に Robert Koch の弟子である Pfeiffer¹⁾ がコレラ菌の研究中に菌体に結合した耐熱性毒素を見だし、これを内毒素 (endotoxin) と命名したときに始まる。また1894年 Centanni²⁾ はチフス菌にも同様の活性を認め、それが発熱性を有することから発熱因子 (pyrotoxina) と呼んだ。

1933年 Boivin ら³⁾ がネズミチフス菌の細胞表層からトリクロール酢酸を用いて、Et 活性を持つリポ多糖 (LPS) を初めて分離し、Et の本態についての研究が開始された。1954年 Westphal ら⁴⁾ は菌体を熱フェノール抽出することによって、Et 活性が LPS に結合している脂質部分に集約されて存在することを明らかに

しリピドAと呼んだ。また Coley⁵⁾ は *Serratia marcescens* とレンサ球菌の加熱死菌体を混ぜたワクチンにより腫瘍特に肉腫の治療を試み、のちにこれが Et による抗腫瘍活性であると確認され、医学生物学において注目を浴びることとなった。

一方、Et の検出法として、1956年 Bank⁶⁾ がカプトガニ (*Limulus polyphemus*) のグラム陰性桿菌敗血症において血管内凝固が起こることを報告し、1970年に共同研究者の Levin ら⁷⁾ によりカプトガニ血球抽出物 (*Limulus lysate*) を用いたリムルステストが創案され、広く用いられることとなった。1972年 Caridis ら⁸⁾ はこのリムルステストを用いて、重症肝疾患例に敗血症を伴わない Et 血症を認め、内因性 Et 血症と名付けた。また Nolan ら⁹⁾ は inverted gat sac の実験から、腸内細菌由来の Et が腸

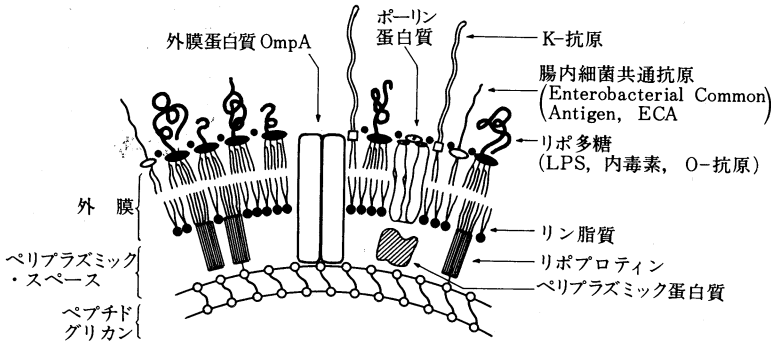


Fig. 1. Structure of cell wall of gram-negative bacillus

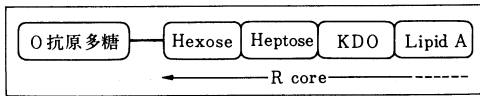


Fig. 2. Structure of lipopolysaccharide

粘膜から吸収されることを証明し、肝障害の成因や進展と内因性 Et 血症との関連を指摘している。しかしゲル化反応を指標とする定性的検出法であるリムルステストの限界や血中の偽陽性や陰性物質の処理法の問題があった。¹⁰⁾ 最近、前処理として過塩素酸 (PCA)¹¹⁾ を用い、Limulus lysate に合成発色基質 (LCT)¹²⁾ を組み込み比色定量する PCA-LCT が開発され、Et 研究の新しい展開を迎えた。

Et の構造や測定法、さらに肝疾患との関連について若干の知見と今後の問題点について述べたい。

I. エンドトキシンの構造と生物活性

1) グラム陰性桿菌細胞壁の構造 (Fig. 1)¹³⁾

グラム陰性桿菌には細胞膜の外側に細胞壁があり、その基本構造は外膜とペプチドグリカン層の二重膜構造となっている。¹⁴⁾ 外膜は K 抗原や腸内細菌共通抗原 (enterobacterial common antigen), リポ蛋白など多くの両親媒性物質から成っている。LPS は外膜の外側部分に局在し、リピド A 成分を介してリン脂質中に挿入された構造とされている。¹⁵⁾ また LPS は細胞膜で合成されたあと、細胞壁外膜に転送され、¹⁶⁾ グラム陰性桿菌の主表面抗原の一つとなるため、この部分は O 抗原と呼ばれている。

2) リポ多糖の構造

LPS の超微細構造は菌種や分離法により異なるが、分子量 10,000~118,000 のサブユニットからなる重合体で、分子量は数百万である。LPS は 7~10 nm のフィラメント状構造を基本としてリボン状、円板状またはドーナツ状を呈するとされている。すなわち

LPS の外側は電子密度の高いコア多糖で、複雑な脂質のリピド A がコアの内側に、O 抗原多糖が外側に毛髪状に伸展していると推定されている。¹⁷⁾

Figure 2¹⁸⁾ に LPS の構成単位を示す。リピド A に続き炭素数 8 の 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid (KDO) と炭素数 7 の L-glycero-D-manno-heptose (heptose) の部分があり、さらに hexose の部分が続き、この部分までを R core と呼んでいる。O 抗原多糖は菌体の抗原性を担っている部分であり、種々のオリゴ糖の繰り返し構造から成っており、R core とは別の遺伝的制御を受け、各菌ごとに異なる構造をとっている。

3) リピド A, リポ多糖の分子構造

1977年 Westphal 一派¹⁹⁾ は *Salmonella minnesota* Re 変異株から得た試料の化学的解析によって、リピド A の基本構造をはじめて提案した。しかしこれを基にした化学合成の結果、このリピド A の生物活性強度は天然リピド A に比して極めて弱く、厳密には異なる疑いが生じた。1983年に二次元 NMR (核磁気共鳴) や LDMS (laser desorption mass spectrum) などの構造解析機器を駆使して分析した結果、リピド A の化学構造が解明された。^{20)~23)} 1985年大腸菌リピド A の構造に基づいて化学合成されたリピド A の生物活性は天然の大腸菌リピド A のものと全く同一の活性を示した。²⁴⁾ この合成研究により Et の活性本体が真にリピド A に内蔵されていること、そして大腸菌リピド A の

化学構造が正しく表されていることが証明された。さらに天然の *E. coli* Re 変異株 F151 を用いて LPS のエステル型アシル基を除去した後、すべての水酸基をアセチル化して、つぎに磷酸基をジメチルエステルに変えることにより高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて単一な化合物とし、二次元 NMR によって構造解析に成功した (Fig. 3).²⁵⁾ ここに Et の分子レベルでの基盤が確立されることとなった。

4) Et の生物活性と今後の課題

Et は非常に多彩な生物活性を有している (Table 1)²⁶⁾ が、直接的に標的細胞に働く活性

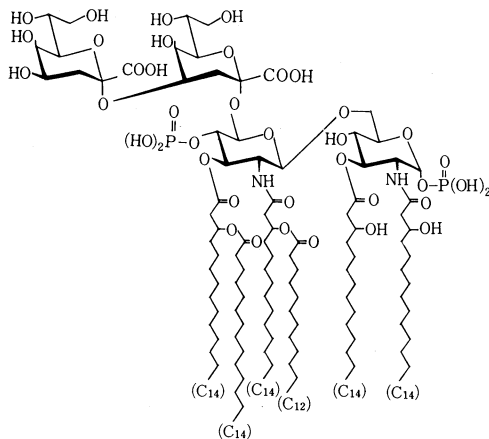


Fig. 3. Chemical structure of *E. coli* Re LPS

と Et によって刺激された細胞から放出されるメディエーターを介して間接的に発現される活性に大別される。特に後者においてサイトカインの誘導作用が注目され、腫瘍壊死因子 (TNF) やインターフェロンの誘導などの抗腫瘍活性の研究が盛んに行われている。この抗腫瘍活性はリポドAのみでは LPS より弱く、したがってリポドAに結合している置換基も Et としての活性の増強や修飾に関与しているとされている。²⁷⁾ 以上の観点から、種々の Et の生物活性から有用な生物活性を残し、毒素としての活性をできるだけ減じた合成化合物の研究が続けられている。²⁸⁾

II. エンドトキシンの測定

1) リムルステストの問題点

1970年に Levin ら²⁷⁾ によって *Limulus* lysate を用いた Et 検出法であるリムルステストが報告された。また Levin らは血中には Et による *Limulus* lysate のゲル化反応を阻害する物質があり、これを除外するために血液検体をクロロホルムにて前処理することを提唱した。1975年 Cooperstock ら²⁹⁾ は1~4時間を必要とするクロロホルム法に対して希釈加熱法 (Cooperstock 法) は10分間で済み、検出感度も高いと報告した。しかしゲル化反応を指標と

Table 1. Biological activities of endotoxin

Pyrogenicity	Induction of nonspecific resistance to infection
Lethal toxicity in mice	Induction of tolerance to endotoxin
Leukopenia	Induction of early refractory state to temperature change
Leukocytosis	Adjuvans activity
Local Shwartzman reaction	Mitogenic activity for cells
Bone marrow necrosis	Tumor necrotic activity
Embryonic bone resorption	Macrophage activation
Complement activation	Induction of colony stimulating factor
Depression of blood pressure	Induction of IgG synthesis in newborn mice
Platelet aggregation	Induction of prostaglandin synthesis
Hageman factor activation	Induction of interferon production
Induction of plasminogen activator	Induction of tumor-necrotizing factor
<i>Limulus</i> lysate gelation	Induction of mouse liver pyruvate kinase
Toxicity enhanced by BCG	Type CRNA virus release from mouse spleen cells
Toxicity enhanced by adrenalectomy	Helper activity for friend spleen focus-forming virus in mice
Enhanced dermal reactivity to epinephrine	Inhibition of phosphoenolpyruvate carboxykinase
	Hypothermia in mice

したリムルステストは主観が入りやすく、定性的検出法であるため微量の Et を確認判定することが困難であり、さらに前処理に用いられている Cooperstock 法での、偽陽性や偽陰性の問題が指摘されている。¹⁰⁾

2) 定量的リムルステスト (PCA-LCT)

Iwanaga ら¹²⁾ は、Et と Limulus lysate との反応過程は3種のセリンプロテアーゼ前駆体が順次活性化され、さらに活性化された clotting enzyme が coagulogen を coagulin に変えてゲル化反応が起こるカスケード系を発見し

た。さらに coagulogen が clotting enzyme により限定分解を受ける部分と同じアミノ酸配列をもつ合成発色基質を Limulus lysate に組み込み、Et を比色定量する合成基質法 (LCT) を考案した (Fig. 4).³⁰⁾ また血中には clotting enzyme と同じアミダーゼ活性をもつ物質 (thrombin, trypsin, Xa 因子等) や、逆に反応を阻害する物質 (α 2-plasmin inhibitor, antithrombin III 等) が知られており、これらが偽陽性や偽陰性の原因となっている。Tamura ら¹¹⁾ は過塩素酸 (PCA) による前処理にて、こ

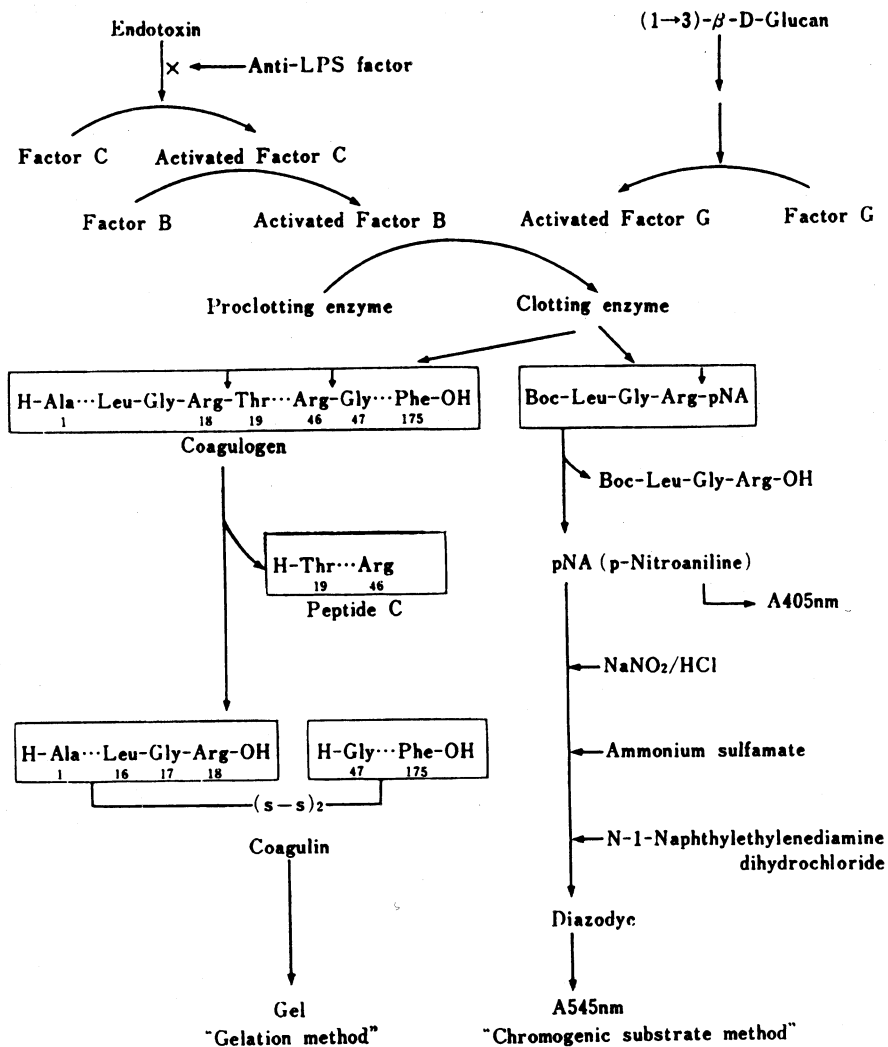


Fig. 4. Schema of two coagulation pathways in a horseshoe crab, *T. tridentatus* and the principle of the limulus test

れら偽陽性物質や偽陰性物質が完全に除去でき、Et添加回収試験でもほぼ100%の回収率を示したと報告している。これらを組み合わせたPCA-LCTにより、リムルステストは客観性のある感度の高い定量法に改良された。

3) PCA-LCTの測定法

著者が用いている実際の測定手順を

Figure 5 に示した。採血および測定時のガラス器具は250°C以上で2時間以上の乾熱処理を行ったものを使用する。患者皮膚を90%エタノールで消毒後ヘパリン加採血し、直ちに4°C 150 × g で10分間遠心分離し多血小板血漿を調節する。血漿検体にPCAを加え、37°Cで20分間加温後、遠心分離し、上清をNaOHで中和し処理検体とする。この処理検体に、トリス塩酸緩衝液に溶解したLimulus lysate と合成基質よりなる反応液を添加し、37°Cで30分間加温する。その後ジアゾ化試薬を順次添加することにより、遊離したp-ニトロアニリンがジアゾ化され赤色となる。545 nmの波長での吸光度を測定し、標準Et (E. coli 0111 B4: Difco社)により作成した検量線からEt濃度を算出する。

4) PCA-LCTの問題点

Limulus lysateのゲル化反応には**Figure 4**に示したように、Et活性化経路のほか、(1→3)-β-Dグルカンで活性化されるG因子経路の存在が明らかとなっている。³¹⁾したがってリムルステストはゲル化法でもPCA-LCTでも、Limulus lysate全体を用いるので、G因子を介してEt以外の物質とも反応し偽陽性を示す点に注意を払う必要がある。G因子に反応す

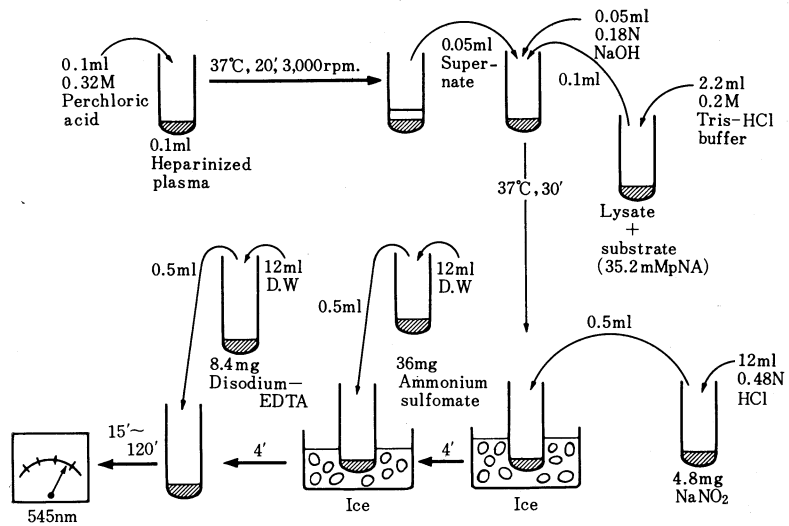


Fig. 5. A method for a quantitative blood endotoxin assay using PCA-LCT

る物質としては(1→3)-β-Dグルカン、PSK(クレスチン®)、真菌多糖(真菌感染症)、セルロース系血液透析膜の洗浄液中に含まれる物質など知られている。Obayashi³²⁾はLimulus lysateからG因子を除去し、Etによって活性化される因子のみで構成したシステムを用い、Etに対する特異性が極めて高い検査法(endotoxin specific test: ES-test)を開発した。またグルカン反応系のみからなるG-testは真菌感染症の補助診断法として期待されている。

一方、前処理として高く評価されているPCA法において、吉田³³⁾はEt添加血漿のPCA処理によって生じる沈殿中にもEtが検出されると報告し、従来のPCA処理法の問題点を指摘している。また彼らはPCA処理にて生じた沈殿物を再可溶し、上清とともにEtを測定できるNew PCA処理法を創案し、その有用性および信頼性について現在検討している。³⁴⁾

III. 各種肝疾患とエンドトキシン

1972年 Caridis⁸⁾は劇症肝炎2例と肝硬変2例において敗血症を伴わないEt血症を認め、内因性Et血症と名付けた。Jacob³⁵⁾は胆嚢摘出例や腸切除例において門脈血中Etを97%に認めたが、門脈血中の細菌は12例中1例

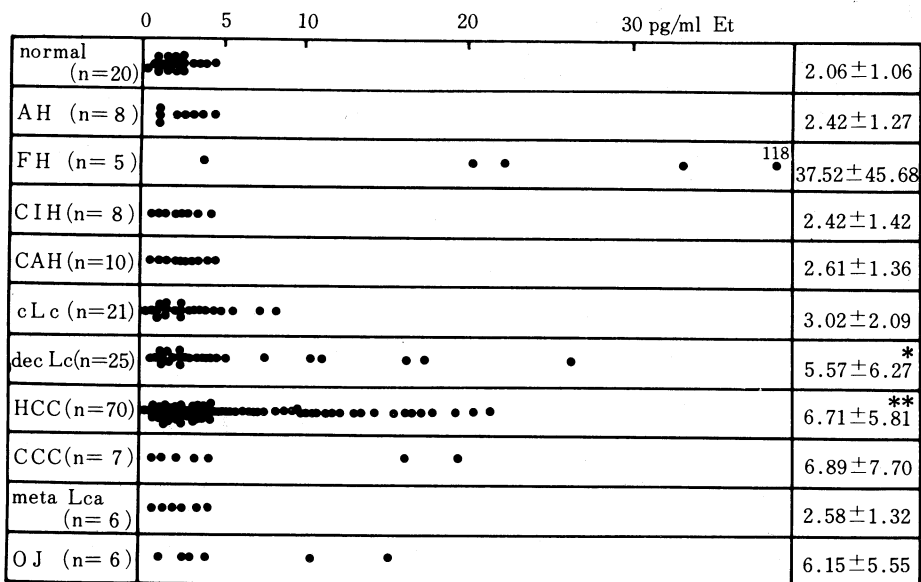
に *E. coli* を認めたにすぎないと述べ、正常人でも門脈血中に Et が存在すると報告している。しかし門脈血中 Et は肝内の Kupffer 細胞をはじめとする細網内皮系 (RES) により処理され、正常状態では体循環には出現しないと推察している。Nolan³⁶⁾ は高度肝障害例では RES に処理されない Et が spill over し体循環に出現することがあり、肝障害の成因や進展と腸内細菌由来の内因性 Et 血症との関連を指摘している。以後、肝疾患と内因性 Et 血症について数多くの報告がなされている。Tarao³⁷⁾ は肝硬変のうち有腹水例の 76%、無腹水例の 24% に Et 血症を認めたと報告し、腹水と Et 血症との関連を指摘している。しかし Fulenwider³⁸⁾ は肝硬変の有腹水例の 11 例と無腹水例 27 例の血中および腹水中の Et を測定し、すべての例で Et は陰性であったと報告している。このように報告者により結果が一致しない原因として、Et の検出法として従来のリムルステストを用いているために、前述したように subclinical な微量の Et の確認判定

の問題や、検体の前処理による特異性や感度の問題が指摘されている。PCA-LCT の出現により Et の検出が客観的に定量できるようになり、肝疾患における内因性 Et 血症が確認できるようになった。

1) 各種肝疾患における血中 Et と RES 機能

各種肝疾患における PCA-LCT による血中 Et 濃度について、著者らの成績を Figure 6 に示す。³⁹⁾ 健常者 20 名の平均血中 Et 濃度は 2.06 ± 1.06 pg/ml で、5 pg/ml 以下が正常域と考えられた。急性肝炎では全例が正常域であったのに対して、劇性肝炎では高度の Et 血症がみられた。慢性肝炎および代償性肝硬変ではほとんどが正常域を示しているが、非代償性肝硬変および肝細胞癌では有意な血中 Et の上昇を認めている。このように、肝障害が進展するに伴って高率にまた高度な Et 血症が認められている。⁴⁰⁾

一方、RES は Et の処理機構として知られているが、RES 機能の検査法はいまだ確立していない。著者らは臨床応用可能な RES 機能検査



AH: acute hepatitis FH: fulminant hepatitis CIH: chronic inactive hepatitis
 CAH: chronic aggressive hepatitis cLc: compensated liver cirrhosis
 dec Lc: decompensated liver cirrhosis HCC: hepatocellular carcinoma
 CCC: cholangiocellular carcinoma meta Lca: metastatic liver cancer
 OJ: obstructive jaundice Et: endotoxin *p<0.05 **p<0.01

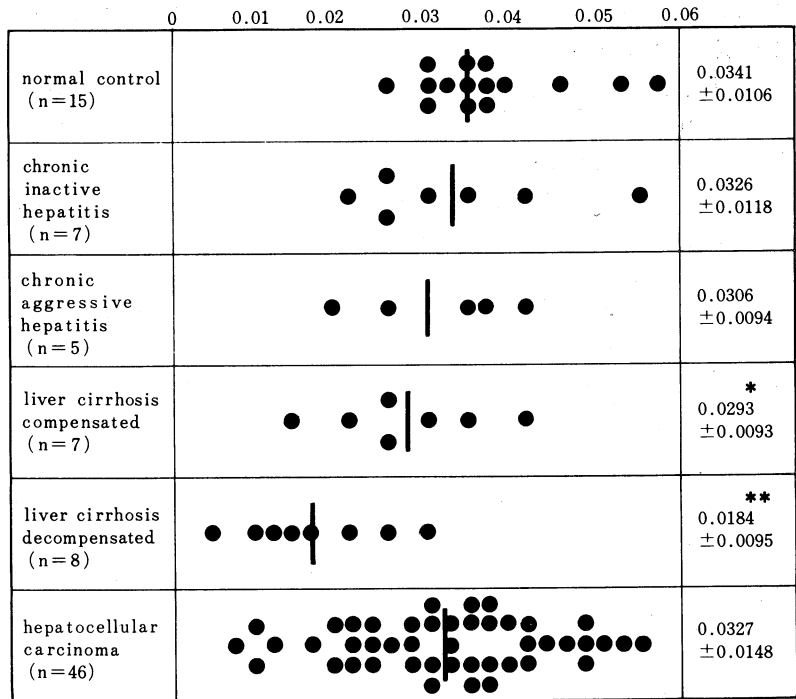
Fig. 6. Blood endotoxin level in various liver diseases

法として lipid emulsion test (LET) の有用性を確認し、さらに各種肝疾患において LET による食食指数を算出した (Fig. 7).⁴¹⁾ 健常者の食食指数は 0.0341 ± 0.0106 で、ほとんどが 0.03 以上を示している。代償性肝硬変では健常者に比して 5% 以下、非代償性肝硬変では 1% 以下の危険率で有意に食食指数の低下を認め、特に非代償性肝硬変では全例において 0.03 以下の低値を示している。

以上のように、高度肝障害例では高率に Et 血症を認め、RES 食食能も低下しており、内因性 Et 血症と RES 機能とは密接に関連していることが示唆された。また血中 Et や LET の測定は肝障害の進展度や予後予測の指標に成り得るであろうと考えられた。

2) 一般肝機能および RES 機能と Et

血中 Et と RES 機能および一般肝機能との関係を検討した結果 (Table 2),³⁹⁾ 血中 Et は RES 機能と ICG 15 分値とに高い相関を認め、肝疾患における内因性 Et 血症と RES 機能低下および肝血流量の減少との関連が示唆された。また血中 Et は γ -globulin および hepaplastin test (HPT) とも有意な相関を認めた。肝疾患での γ -globulin の増加の機序として、特に非代償性肝硬変では門脈血中 Et や細菌性および食事性抗原の増加のために抗体産生が促されているとの報告がある。⁴²⁾ また HPT との関連については、Freudenberg ら⁴³⁾ は Et の処理機構として肝実質細胞の関与を指摘しており、重



*p<0.05
**p<0.01

Fig. 7. Reticuloendothelial phagocytic activities in various liver diseases

Table 2. Correlation between blood endotoxin level and several liver function tests

	n	r	p
KLET	73	-0.527	p<0.001
ICG R ₁₅	145	0.452	p<0.001
γ -glob	166	0.288	p<0.01
Bil (T)	166	0.121	ns
Alb	166	-0.108	ns
ChE	166	-0.084	ns
Cho	166	-0.091	ns
HPT	166	-0.459	p<0.001
GOT	166	0.027	ns
GPT	166	0.011	ns

症肝障害例での高 Et 血症の要因として RES 機能低下だけでなく、肝実質細胞の機能低下の関与を示唆する結果と考えている。また我々は ^{99m}Tc-phytate による肝シンチグラムと血中 Et との関係を林の数量化 I 類にて検討し、両

者に高い関連性を認め、特に右葉の萎縮や左葉の腫大が著明な例や骨髄の放射能集積度が高い例ほど血中 Et も高値をとる結果を得、肝シンチグラム上でも肝障害の進展と Et 血症とに密接な関連があることが示された。⁴⁴⁾

3) 肝疾患における内因性 Et 血症の成因と問題点

急性ウイルス性肝炎では頻度は低いが血中 Et が陽性を示す例も報告されている。⁴⁵⁾ 特に A 型肝炎では発症から 14 日以内での血中 Et の陽性率が高く、肝 RES 機能低下が主因と考えられている。重症アルコール性肝炎でも Et 血症のみられる例があり、RES 機能低下のほかヒスタミン血症に伴う腸管からの Et の吸収の亢進の関与も指摘されている。劇症肝炎において、Wilkinson ら⁴⁶⁾ は腎不全や播種性血管内凝固症候群の合併と Et 血症との関連を指摘している。また志賀ら⁴⁷⁾ は家兎の総胆管内に Et を逆流させ、さらに 24 時間後に耳静脈から Et を注入すると肝臓に出血性の広汎な壊死を来すと報告し、劇症肝炎の成因として Shwartzman 反応⁴⁸⁾ の関与を指摘している。Freudenberg ら⁴⁹⁾ はラットに Et を投与すると初期には Kupffer 細胞に取り込まれ、投与 3 日後には肝実質細胞に移行し、一部は脱アシル化により解毒され胆汁中より腸管に排泄されると報告している。このように劇症肝炎例での Et 血症は肝組織の広汎な壊死により Et の処理機構が破綻した結果であるか、Et による Shwartzman 反応の結果として劇症肝炎を来すのか、これらの因果関係についてはなお明らかでない。

慢性肝疾患における Et 血症の成因として、河野ら⁴⁹⁾ は有効肝血流量の減少とこれに起因する肝 RES 機能低下が主因と考えている。中野ら⁴²⁾ は肝 RES 機能低下と側副血行路の発達とが大きく関与しており、腹水中 Et の腹膜からの吸収やリンパ行性の経路も指摘している。また肝硬変例の腸内胆汁酸量の低下に伴う腸内細菌叢の変化や、腸粘膜からの Et 吸収の促進等も関係していると報告されている。⁵⁰⁾ さらに

Et の処理機構として血漿中に Et 不活化因子 (EIF) の存在も指摘されている。Keene ら⁵¹⁾ はウサギの発熱実験において血漿中に Et を不活化したり分解する物質があることを指摘し、これは酵素による反応であろうと推察している。Skarnes ら⁵²⁾ は、まず耐熱性 α -lipoprotein に属する分画が Et の大きな分子を破壊し、次に易熱性 α -globulin に属する分画により不活化されると述べている。また Ulevitch ら⁵³⁾ は、Et は high density lipoprotein と結合し、解離した後にさらに酵素的に解毒されると考えている。PCA-LCT を用いた *in vitro* での Et 添加実験において、Obayashi⁵⁴⁾ は 56°C で 30 分間の処理をした血漿や血清中の Et 不活化能は著明に低下していると報告している。さらに青木ら⁵⁵⁾ は、チオアセトアミド障害肝ラット血漿では EIF の低下が内因性 Et 血症発来の一要因であろうと推察している。このように血漿の Et 不活化能の存在は示唆されているが、その本態についてはいまだ定説をみるに至っていない。一方、Tarao ら⁵⁶⁾ は肝硬変症に対して非吸収性抗生物質を長期間投与し、血中 Et の低下と肝機能の回復をみたし報告し、内因性 Et 血症が肝硬変の進展に関与していると述べている。著者ら⁵⁷⁾ も非代償性肝硬変患者に非吸収性抗生物質であるポリミキシン B を経口投与し、血中 Et の低下に伴い肝不全の改善を認めた。さらにラットの四塩化炭素⁵⁸⁾ やガラクトサミン肝障害⁵⁹⁾ では、Et が肝細胞障害の要因になっていると指摘されている。以上のように、慢性肝疾患の場合も Et 血症が肝疾患の進展の結果であるか、成因の一つであるかはまだ明らかではない。

著者らの検討では、各種肝疾患において血中 Et 濃度が 10 pg/ml 以上の例では、発熱や腎機能障害や pre DIC 状態等の Et によると思われる臨床所見がみられたが、5~10 pg/ml 程度の軽度の Et 血症ではほとんどが無症状であった。^{39), 40)} Beeson⁶⁰⁾ は Et に対して biological tolerance が成立することを指摘しており、慢性肝疾患において内因性 Et による生体への影響が出現する臨床上有意な血中 Et 濃度は

10 pg/ml 以上で、10 pg/ml 以下の Et 血症では Et に対する tolerance が成立しているものと考えられる。矢島⁶¹⁾も PCA-LCT にて肝疾患での血中 Et を測定し、内因性 Et 血症例では必ずしも shock や DIC を伴わないと述べ、さらに内因性 Et は PCA-LCT では検出できるが、G 因子を除いた E-S test では検出できないことを指摘し、外因性 Et と内因性 Et との異同の問題が新たに生じている。

IV. 肝動脈塞栓術とエンドトキシン

1) 臨床的検討

近年肝細胞癌の治療として肝動脈塞栓術 (TAE) が行われ良好な成績をあげている^{62), 63)}が、術後肝不全を合併し不幸な転帰をとる例もみられる。TAE 後の肝不全の発生には RES 機能低下の関与が示唆されており、⁶⁴⁾TAE 後の予後と内因性 Et 血症との関連が注目される。著者は TAE 施行肝細胞癌 50 例において経時的に血中 Et と、RES 機能検査として LET による貪食指数 (KLET) とを測定した (Fig.

8).⁶⁵⁾TAE 1 日後には有意な血中 Et の上昇と RES 機能の低下を認めるが、TAE 後順調な経過をとった例では上昇した血中 Et や低下した RES 機能は TAE 3 日後には回復し

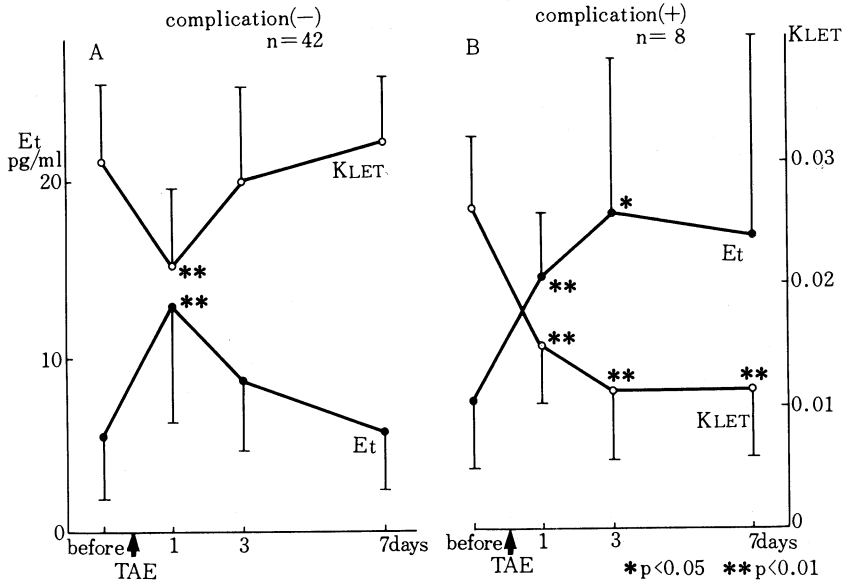


Fig. 8. Serial change of blood endotoxin level and reticuloendothelial phagocytic activities in TAE cases. A) without complication after TAE. B) with complication after TAE.

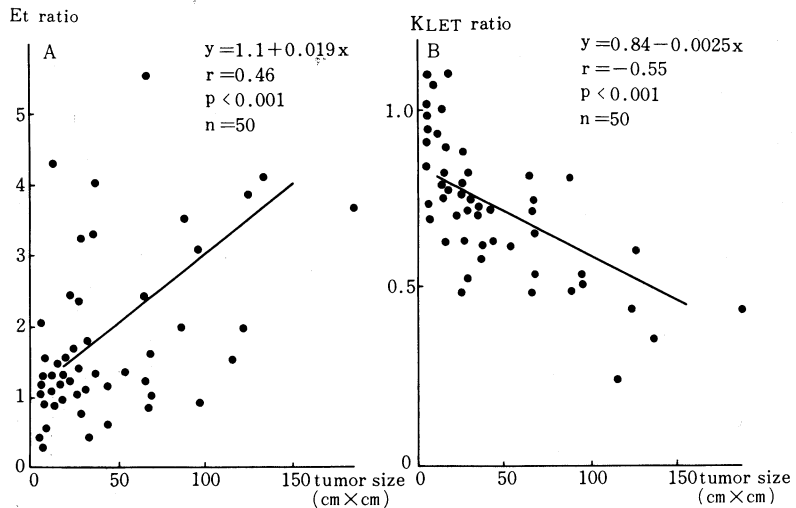


Fig. 9. Relationship between endotoxin ratio (A), KLET ratio (B) and tumor size in hepatocellular carcinoma.

Et ratio = Et level after TAE / before TAE
KLET ratio = KLET after TAE / before TAE

た。しかし術後肝不全等の合併を来した例では TAE 3 日目以降の回復傾向はみられなかった。また TAE 前と TAE 1 日後の血中 Et の変化率および RES 機能の変化率と主腫瘍の大きさ（長径×短径）との関係を検討した結果（Fig. 9），両者共に有意な相関が認められ，主腫瘍の大きい症例ほど TAE 1 日後の血中 Et の上昇や RES 機能の低下が著しいことが示された。Gut ら⁶⁶⁾ の frog virus 3 を用いた RES の block についての研究では，24 時間後に RES 機能は最も低下し，以後回復傾向を示しており，順調な経過をとった TAE 例の成績はこれとほぼ同様の変化といえる。また検査成績は示していないが，血管造影，抗癌剤 one shot 動注および抗癌剤とリピオドールの動注例では，いずれも血中 Et や RES 機能には有意な変動は示さなかった。以上から，TAE 後の Et 血症の機序として，TAE 直後には多量の腫瘍壊死物質が RES に取り込まれ，RES が飽和されて一時的に RES 機能が block された状態となり，Et の処理能力が低下するために

血中 Et の上昇を来すものと考えられた。TAE 後順調な例では 3 日目以降には RES 機能は回復し，Et が処理されて前値に復する傾向を示す。しかし肝不全等の持続している例では，RES の処理能力を超えた Et や腫瘍壊死物質等が持続的に供給されるために RES 機能が block されたままの状態となり，3 日目以降の回復がみられない。TAE 後の合併症例ではこのような悪循環が起こっているものと考えている。

2) 実験的検討

また，著者は家兎に VX 2 移植肝癌を作成後 TAE を施行し，TAE 後の内因性 Et 血症発現の機序について検討した。家兎末梢血 Et は TAE 後に経時的に上昇し，TAE 3 時間以降は有意な上昇を認めた。RES 機能は TAE 1 時間後にすでに有意な低下を示しており，TAE 後の血中 Et 上昇の機序として，前述した RES 機能の block の関与を支持するものと思われた（Fig. 10）。また TAE 後の門脈血中 Et は正常家兎の門脈血中 Et に比して有意に上昇し

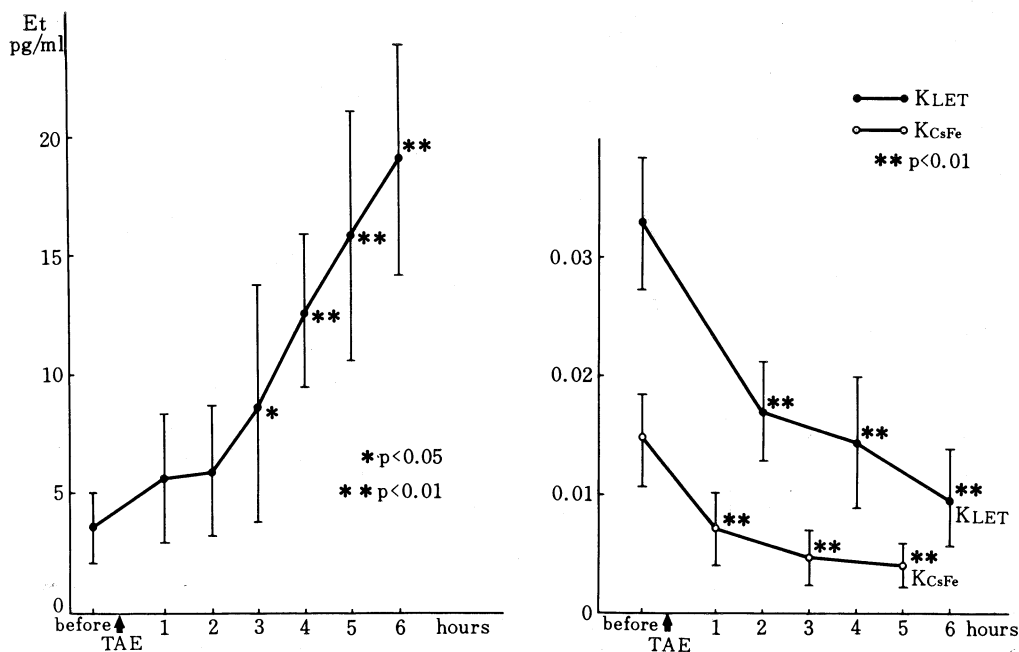


Fig. 10. Serial change of blood endotoxin level and reticuloendothelial phagocytic activities using lipid emulsion and ironchondroitin sulfate compound after experimental TAE

ており (Fig. 11), TAE 後の Et 血症の成因の一つとして, TAE による急激な循環動態の変化に伴い, 腸管からの Et の吸収が亢進し, RES の処理能力を上回る Et が供給されているものと思われる. さらに血中の EIF の関与を検討するために, 家兎血漿へ 10 ng/ml となるように標準 Et (E. coli 0111 B4: Difco 社) を加え, 37°C で incubate し, 経時的に残存 Et 濃度を測定した (Fig. 12). その結果, 37°C にて incubate することのみで Et 濃度は急速に低下し, ほぼ指数関数的に減少する傾向を認め, 家兎血漿中には何らかの EIF が存在することが推察された. また添加した Et の消失率 (K_{Et}) を算出し, TAE 前後の K_{Et} を比較したところ, TAE 後に有意な K_{Et} の低下がみられ, TAE 後の Et 血症発現の機序の一つには EIF の低下も関与していることが示唆された (Fig. 13). しかし PCA-LCT による Et の測定では, 前述したように PCA 処理によって生じる沈殿中にも Et が検出されるとの指摘があり, EIF についての本態やその測定法について多角的な検討が必要と思われる.

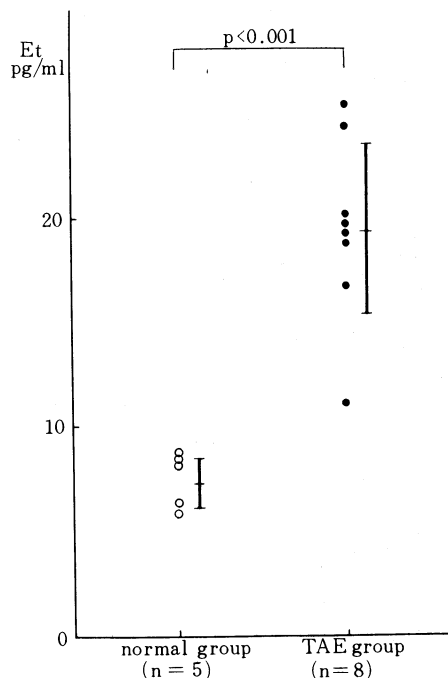


Fig. 11. Endotoxin level in portal blood in normal group and TAE group

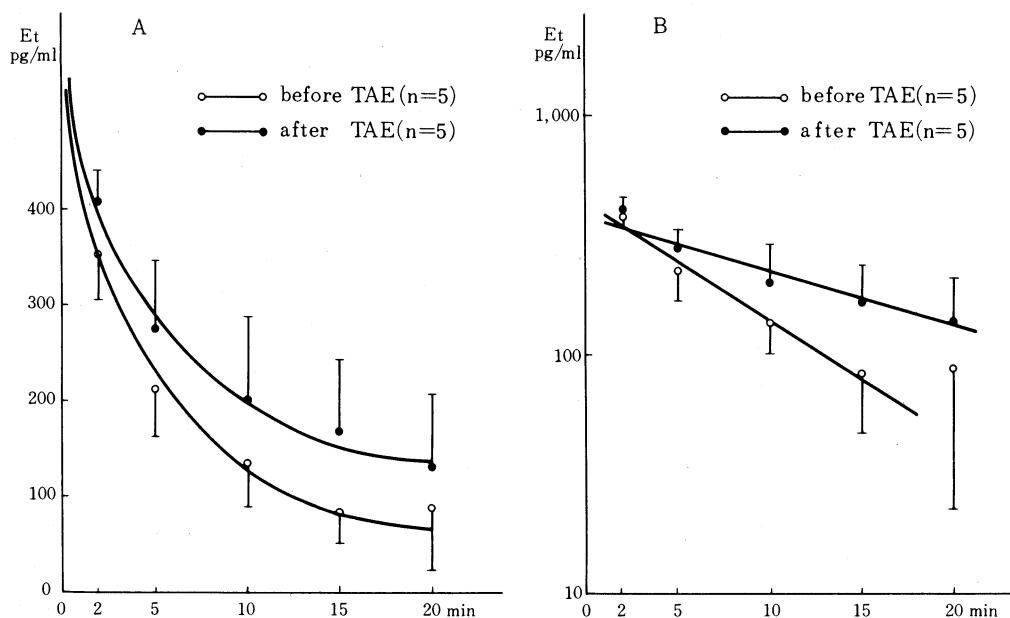


Fig. 12. Disappearance curve of plasma endotoxin after addition of standard endotoxin to plasma before and after experimental TAE

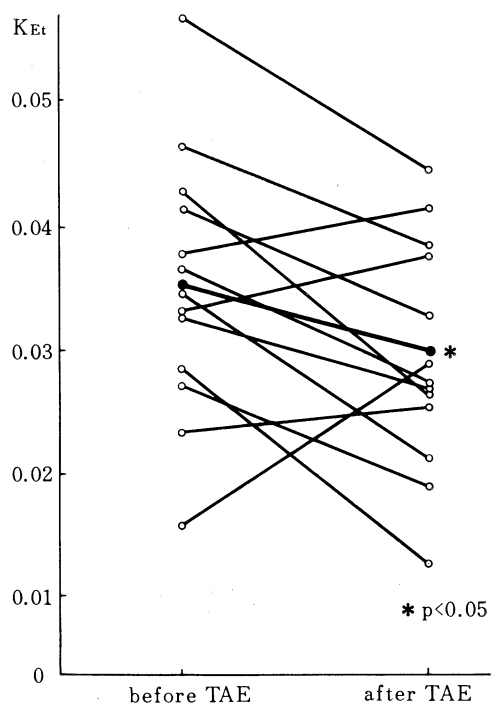


Fig. 13. Difference of K_{Et} in plasma before and after TAE suggested that endotoxin inactivating activity was reduced by TAE.

V. 肝細胞障害の発生機序とエンドトキシン

Etにより肝実質細胞障害を来すことはよく知られているが、その発生機序についてはいまだ定説はなく、前述した Shwartzman 反応の関与のほか、Et血症に伴う肝循環障害、Etによる直接の肝細胞障害、さらにEtと肝Kupffer細胞との反応の結果生じる肝障害因子による肝障害等が想定されている。芝山ら⁶⁷⁾はEtによる肝壊死の主因はフィブリン血栓による類洞循環障害であろうと推察している。またEtの肝細胞に対する直接作用を指摘する報告として、Clemensら⁶⁹⁾はEtの肝細胞膜障害作用を考えており、さらにEtの小胞体あるいはミトコンドリアの障害作用の結果、肝障害が出現するとの報告もある。^{69), 70)} Weissmannら⁷¹⁾は全肝のリソソーム分画を用いた検討からEtが肝実質細胞のリソソーム膜に対して不安定因子として働き、肝障害が起こると考えている。これに対して吉武ら⁷²⁾はEt投与後、肝

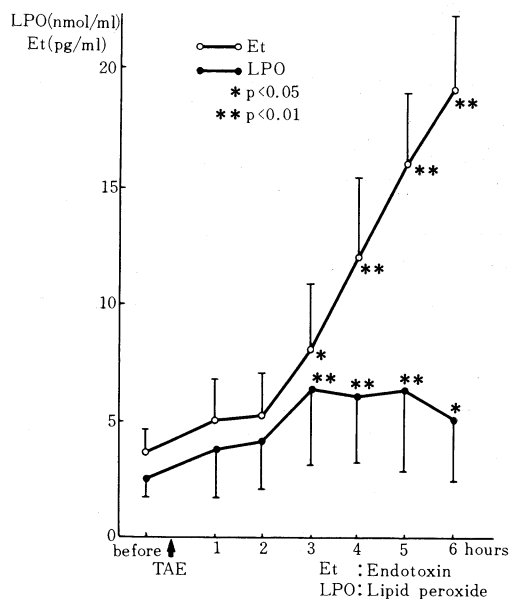


Fig. 14. The time course of plasma endotoxin level and serum lipid peroxide concentration after experimental TAE

を肝実質細胞成分とKupffer細胞を主成分とする非肝実質細胞成分とに分離し各成分の酵素活性を検討し、まずKupffer細胞のリソソーム酵素活性が上昇することを指摘し、さらにKupffer細胞から肝実質細胞の障害因子が産生されていると推察している。またEtとKupffer細胞との培養後にみられるprocoagulant factorの産生による肝微小循環障害、⁷³⁾ EtとKupffer細胞の反応により産生される蛋白抑制因子による肝実質細胞の代謝障害、⁷⁴⁾ Et耐性マウスへのIL-1投与によるチトクロームP450活性の低下⁷⁵⁾等が報告され、Etにより刺激されたKupffer細胞が何らかの肝実質細胞障害性を示すと考えられている。

最近、Et添加による肝細胞障害にはKupffer細胞から産生された活性酸素をはじめとするフリーラジカルや過酸化反応が関与しているとの報告^{76)~78)}や活性酸素が肝の線維化を促進するとの報告⁷⁹⁾がある。ラットにEtを投与すると、肝組織内の過酸化脂質は上昇し、フリーラジカル産生系酵素であるxanthin oxidase

の上昇とフリーラジカル消去系酵素である superoxide dismutase (SOD) の低下とがみられることが指摘されている。^{80), 81)} 著者らは家兎の実験的 TAE において経時的に血中過酸化脂質 (LPO) を測定し, TAE 3時間以降に血中 Et と LPO の有意な上昇を認め, 内因性 Et 血症でも Et の投与実験と同様に, Kupffer 細胞からフリーラジカルが産生され過酸化反応が起こっているものと推察した (Fig. 14).⁸²⁾ 尾崎ら⁸³⁾ は実験的 TAE にフリーラジカル消去系物質の CoQ₁₀ を併用することにより, TAE 後の肝組織血流量や肝機能, ミトコンドリア機能の低下を抑制できたと報告している. また著者らの結果では TAE 3時間から6時間後では血中 Et は経時的な上昇を示すのに対して, 血中 LPO は有意な上昇を示すもののほぼ同値を推移した. 谷口ら⁸⁴⁾ や有井ら⁸⁵⁾ は低用量の Et 投与では Kupffer 細胞のフリーラジカル産生能の亢進に対して肝 SOD 活性はむしろ上昇したと報告している. このことから TAE 3時間以降の血中 LPO の変動は, フリーラジカル消去系物質が誘導された結果と考えている. 以上から内因性 Et 血症でも外因性 Et のように, Kupffer 細胞のフリーラジカル産生が刺激され, 膜脂質が過酸化されて過酸化脂質が生成される, いわゆるラジカル連鎖反応が起こり, 細胞膜の障害を来し組織障害が起こるものと推察される.

肝臓の Kupffer 細胞は前述のように, Et の処理機構として重要な役割を演じており, Kupffer 細胞は防御と障害の点で生体にとって諸刃の剣と言える. 肝実質細胞と Kupffer 細胞との関連についての研究により, 肝細胞障害の発生機序の一つが解明されるものと期待される.

VI. エンドトキシン血症の治療

敗血症に伴う外因性 Et 血症の治療としては, 原因となる感染巣の除去, 感受性のある抗生物質の投与, 次いで発症するであろうショックに対する治療に主眼がおかれている. しかしショック離脱後に多臓器不全を来し, 致命的な経過をたどる場合も多く, いまだ十分満足しう

る治療法は確立されていない. そこで, 生体側の防衛機構の強化すなわち免疫学的アプローチ^{86), 87)} や体外循環を応用した Et の血液浄化法が試みられている.⁸⁸⁾⁻⁹⁰⁾

一方, 内因性 Et 血症に対する治療についての報告は少なく, ラクツロースの投与やカナマイシン, ネオマイシン, ジベカシン, パロモマイシン等のアミノグリコシド系抗生物質やポリミキシン B (PLB) 等のポリペプチド系抗生物質の腸内殺菌作用をもつ非吸収性抗生物質の経口投与が試みられている. Tarao ら⁵⁶⁾ は肝硬変例に対して硫酸パロモマイシンを長期間投与し血中 Et の低下と肝機能の回復をみたし報告している. また足立ら⁹¹⁾ は非代償性肝硬変例での硫酸ジベカシンの効果として, 高アンモニア血症と高 Et 血症の両方に効果を認めたが, 投与直後には一過性に血中 Et の上昇を来す例があると述べている. さらに岩崎ら⁹²⁾ は肝硬変例にカナマイシンを投与し血中 Et は一過性に陽性化を示すが, PLB 投与では Et 血症は陽性化することなく改善したと述べている. PLB は殺菌作用のほか, 界面活性作用により Et のミセル構造を解離させて Et の不活化作用も有している.⁹³⁾

著者らも非代償性肝硬変例に対して PLB 300万 U/day を2週間経口投与し, 血中 Et および臨床的效果を検討し, 血中 Et の改善に伴って肝不全の改善傾向も認めた.⁵⁷⁾

一方, Et によって刺激された Kupffer 細胞による肝障害を抑制しようとする治療も試みられている. 副腎皮質ホルモンや CoQ₁₀ の投与により内因性 Et 血症の抑制や肝障害の予防が可能であったとの報告⁸³⁾ や, α -Tocopherol⁹⁴⁾ や還元型グルタチオン⁹⁵⁾ などによる膜脂質の過酸化反応の抑制が試みられている. さらに内因性 Et 血症に対しても免疫学的アプローチや血液浄化療法の適応があるとの報告もある.⁹⁶⁾ このように, 内因性 Et 血症に対する治療として, Et の産生系である腸内細菌の抑制と, Et により刺激された Kupffer 細胞の肝障害因子の抑制に対する治療が試みられている.

おわりに

Et の発見から約100年でその分子構造が解明され、抗腫瘍活性への応用が試みられている。肝疾患における内因性 Et 血症が確認できる定量的リムルステスト (PCA-LCT) が開発されてからはわずか10年である。今後は Et の有用な生物活性を生かした合成化合物の研究、内因性 Et が生体に対していかに関与しているか、

その本態は何か、さらに肝障害との因果関係とともに Et 血症の治療法やその適応について、検討されなければならない。

稿を終えるに臨み、VX2 腫瘍細胞を提供してくださった川崎医科大学放射線科 今井茂樹助手、梶原康正助教授、西下創一教授に深謝いたします。また統計的解析を御教示いただいた川崎医科大学数学教室 有田清三郎助教授に感謝いたします。

文 献

- 1) Pfeiffer, R.: Untersuchungen über das Cholera Gift. Z. Hyg. Infektkr. 11 : 393—412, 1892
- 2) Centanni, E.: Untersuchungen über das Infektionsfieber—das Fiebergift der Bakterien. Dtsch. Med. Wochenschr. 20 : 148—150, 1894
- 3) Boivin, A., Mesrobianu, I. and Mesrobianu, L.: Extraction d'un complexe toxique et antigenique: A partir du Bacille d'aertrycke. C. R. Soc. Biol. 114 : 307—310, 1933
- 4) Westphal, O. and Luderitz, O.: Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien. Angew. Chem. 66 : 407—417, 1954
- 5) Coley, W. B.: The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. Am. J. med. Sci. 105 : 487—511, 1893
- 6) Bank, F. B.: A bacterial disease of limulus polyphemus. Bull. Johns Hopkins Hosp. 98 : 325—351, 1956
- 7) Levin, J., Tomasulo, P. A. and Oser, R. S.: Detection of endotoxin in human blood and determination of an inhibitor. J. Lab. clin. Med. 75 : 903—911, 1970
- 8) Caridis, D. T., Reinhold, R. B., Woodruff, P. W. H. and Fine, J.: Endotoxaemia in man. Lancet 1 : 1381—1386, 1972
- 9) Nolan, J. P., Hara, D. K., McDevitt, J. J. and Ali, M. V.: In vitro studies of intestinal endotoxin absorption. I. Kinetics of absorption in the isolated inverted gut sac. Gastroenterology 72 : 434—439, 1977
- 10) 矢島義昭：合成発色基質を用いた血中エンドトキシン測定法の臨床応用と肝疾患におけるエンドトキシン血症の臨床的意義について。肝臓 27 : 934—944, 1986
- 11) Tamura, H., Obayashi, T., Takagi, K., Tanaka, S., Nakahara, C. and Kawai, T.: Perchloric acid treatment of human blood for quantitative endotoxin assay using synthetic chromogenic substrate for horseshoe crab clotting enzyme. Thromb. Res. 27 : 51—57, 1982
- 12) Iwanaga, S., Morita, T., Harada, T., Nakamura, S., Niwa, M., Takada, K., Kimura, T. and Sakakibara, S.: Chromogenic substrate for horseshoe crab clotting enzyme. Its application for the assay of bacterial endotoxins. Haemostasis 7 : 183—188, 1978
- 13) Rietschel, E. Th., Brade, H., Kawahara, K., Lindner, B., Schade, U., Zahringer, U., Galanos, C., Luderitz, O., 楠本正一, 芝 哲夫: 細菌リポ多糖の内毒素活性中心, リピドAの化学構造と生物活性。織田敏次監修, 本間 遜, 玉熊正悦編: エンドトキシン研究の新しい展開。東京, 羊土社。1986, pp. 11—19
- 14) Petris, S. D.: Ultrastructure of the cell wall of Escherichia coli. J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res. 12 : 247—262, 1965
- 15) Schnaitman, C. A.: Effect of ethylenediaminetetraacetic acid, triton X-100 and lysosome on

- the morphology and chemical composition of isolated cell walls of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 108 : 553—563, 1971
- 16) Osborn, M. J., Gander, J. E. and Parisi, E.: Mechanism of assembly of the outer membrane of *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* 247 : 3973—3986, 1972
 - 17) Lopes, J. and Inniss, W. E.: Electron microscopic study of lipopolysaccharide from an avian strain of *Escherichia coli* 018. *J. Bacteriol.* 103 : 238—243, 1970
 - 18) 金ヶ崎士朗: エンドトキシンの構造と生物活性. *肝胆膵* 12 : 505—513, 1986
 - 19) Galanos, C., Luderitz, O., Rietschel, E. Th. and Westphal, O.: Newer aspects of the chemistry and biology of bacterial lipopolysaccharides, with special reference to their lipid A component. *In International review of biochemistry, biochemistry of lipids II.* ed. by Goodwin, T. W., Baltimore, University Park Press. 1977, pp. 239—335
 - 20) Imoto, M., Kusumoto, S., Shiba, T., Naoki, H., Iwashita, T., Rietschel, E. Th., Wollenweber, H. W., Galanos, C. and Luderitz, O.: Chemical structure of *E. coli* lipid A: Linkage site of acyl groups in the disaccharide backbone. *Tetrahedron Lett.* 24 : 4017—4020, 1983
 - 21) Sidorczyk, Z., Zahringer, U. and Rietschel, E. Th.: Chemical structure of the lipid A component of lipopolysaccharide from a *Proteus mirabilis* Re-mutant. *Eur. J. Biochem.* 137 : 15—21, 1983
 - 22) Stain, S. M., Fesik, S. W. and Armitage, I. M.: Characterization of lipopolysaccharide from a heptoseless mutant of *Escherichia coli* by carbon 13 nuclear magnetic resonance. *J. Biol. Chem.* 258 : 2906—2910, 1983
 - 23) Takayama, K., Qureshi, N. and Mascagni, P.: Complete structure of lipid A obtained from the lipopolysaccharides of the heptoseless mutant of *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* 258 : 12801—12803, 1983
 - 24) Kotani, S., Takada, H., Tsujimoto, M., Ogawa, T., Takahashi, I., Ikeda, T., Otsuka, K., Shimauchi, H., Kasai, N., Mashimo, J., Nagao, S., Tanaka, A., Tanaka, S., Harada, K., Nagaki, K., Kitamura, H., Shiba, T., Kusumoto, S., Imoto, M. and Yoshimura, H.: Synthetic lipid A with endotoxic and related biological activities comparable to those of a natural lipid A from an *Escherichia coli* Re-mutant. *Infect. Immun.* 49 : 225—237, 1985
 - 25) Zahringer, U., Lindner, B., Seydel, U., Rietschel, E. Th., Naoki, H., Unger, F. M., Imoto, M., Kusumoto, S. and Shiba, T.: Structure of de-O-acylated lipopolysaccharide from the *Escherichia coli* Re mutant strain F 151, *Tetrahedron Lett.* 26 : 6321—6324, 1985
 - 26) Westphal, O., Jann, K. and Himmelspach, K.: Chemistry and immunochemistry of bacterial lipopolysaccharides as cell wall antigens and endotoxins. *Prog. Allergy* 33 : 9—39, 1983
 - 27) Kanegasaki, S., Tanamoto, K., Yasuda, T., Homma, Y., Watsuura, M., Nakatsuka, M., Kumazawa, Y., Yamamoto, A., Shiba, T., Kusumoto, S., Imoto, M., Yoshimura, H. and Shimamoto, T.: Structure-activity relationship of lipid A: Comparison of biological activities of natural and synthetic lipid A's with different fatty acid compositions. *J. Biochem.* 99 : 1203—1210, 1986
 - 28) Tsujimoto, M., Kotani, S., Shiba, T., Kusumoto, S., Hasegawa, A., Kiso, M. and Ono, Y.: Regressive action with induction of hemorrhagic necrosis of mixtures of acylated muramyl-peptides and synthetic, low toxic lipid A analogs on Meth A fibrosarcoma. *Adv. Biosci.* 68 : 151—165, 1988
 - 29) Cooperstock, M. S., Tucker, R. P. and Baublis, J. V.: Possible pathogenic role of endotoxin in Rey's syndrome. *Lancet* 1 : 1272—1274, 1975
 - 30) Nakamura, T., Morita, T. and Iwanaga, S.: Biochemical characterization of protein

- components associated with hemolymph coagulation system of limulus (*Tachypleus tridentatus*). *Thromb. Haemost.* 50 : 405, 1983
- 31) Morita, T., Tanaka, S., Nakamura, T. and Iwanaga, S.: A new (1→3)- β -D-glucan-mediated coagulation pathway found in *Limulus* amoebocytes. *FEBS Lett.* 129 : 318–321, 1981
 - 32) Obayashi, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ohki, M., Takahashi, S., Arai, M., Masuda, M. and Kawai, T.: A new chromogenic endotoxin-specific assay using recombinant limulus coagulation enzymes and its clinical applications. *Clin. Chim. Acta* 149 : 55–65, 1985
 - 33) 吉田昌男, 高橋和彦, 平田陸正, 稲田捷也, 菊池 充, 田中重則, 田村弘志: 合成基質を用いた血中エンドトキシンの微量定量法について—トキシンカラーテストおよび ES テストについての 2, 3 の知見. 織田敏次監修, 本間 遜, 玉熊正悦編: エンドトキシン研究の新しい展開. 東京, 羊土社. 1986, pp. 35–44
 - 34) 高橋和彦, 菊池 充, 平田陸正, 吉田昌男, 田中重則, 田村弘志: 血中内毒素測定のための新しい血液処理法—New PCA 処理法について. 織田敏次監修, エンドトキシン臨床研究の新しい展開. 東京, 羊土社. 1987, pp. 41–44
 - 35) Jacob, A. I., Goidberg, P. K., Bloom, N., Degenshein, G. A. and Kozinn, P. J.: Endotoxin and bacteria in portal blood. *Gastroenterology* 72 : 1268–1270, 1977
 - 36) Nolan, J. P.: The role of endotoxin in liver injury. *Gastroenterology* 69 : 1346–1356, 1975
 - 37) Terao, K., So, K., Moroi, T., Ikeuchi, T., Suyama, T., Endo, O. and Fukushima, K.: Detection of endotoxin in plasma and ascitic fluid of patients with cirrhosis: Its clinical significance. *Gastroenterology* 73 : 539–542, 1977
 - 38) Fulenwider, J. T., Sibley, C., Stein, S. F., Evatt, B., Nordlinger, B. M. and Ivey, G. L.: Endotoxemia of cirrhosis: An observation not substantiated. *Gastroenterology* 78 : 1001–1004, 1980
 - 39) 大元謙治, 山本晋一郎, 井手口清治, 山本亮輔, 高取敬子, 和田あゆみ, 斎藤逸郎, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛: 各種肝疾患における血中エンドトキシン測定の臨床的意義. *川崎医学会誌* 14 : 617–623, 1988
 - 40) 大元謙治, 山本晋一郎, 井手口清治, 山本亮輔, 日野一成, 大海庸世, 古城研二, 斎藤逸郎, 平野 寛: 肝疾患における血中エンドトキシンの臨床的意義. *消化器科* 9 : 203–210, 1988
 - 41) 大元謙治, 山本晋一郎, 井手口清治, 山本亮輔, 古城研二, 斎藤逸郎, 和田あゆみ, 山本真理子, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛, 福嶋啓祐: 慢性肝疾患における細網内皮系機能の変化—特に肝動脈血栓症による影響. *消化器科* 9 : 569–576, 1988
 - 42) 中野 均, 矢野洋一, 鈴木 宏, 江口 敏, 永田一良, 有高知樹, 村山俊二, 平井賢治, 佐田通夫, 安倍弘彦, 谷川久一: 網内系機能とエンドトキシン血症. 織田敏次監修, 本間 遜, 玉熊正悦編: エンドトキシン研究の新しい展開. 東京, 羊土社. 1986, pp. 193–204
 - 43) Freudenberg, M. A., Kleine, B. and Galanos, C.: The fate of lipopolysaccharide in rats: Evidence for chemical alteration in the molecule. *Rev. Infect. Dis.* 6 : 483–487, 1984
 - 44) 大元謙治, 山本晋一郎, 井手口清治, 山本亮輔, 古城研二, 斎藤逸郎, 和田あゆみ, 山本真理子, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛, 有田清三郎: 慢性肝疾患における肝シンチグラムと網内系機能, 血中エンドトキシン, 一般肝機能との相関について—多変量解析による検討. *肝胆脾* 18 : 351–358, 1989
 - 45) 安倍弘彦, 中野 均, 谷川久一: 肝疾患とエンドトキシン血症. *肝胆脾* 12 : 551–556, 1986
 - 46) Wilkinson, S. P., Arroyo, V., Gazzard, B. G., Moodie, H. and Williams, R.: Relation of renal impairment and haemorrhagic diathesis to endotoxaemia in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1 : 521–524, 1974
 - 47) 志賀淳治, 加藤綾子, 森 亘: シェワルツマン反応による家兎肝臓の急性出血性壊死. *肝臓* 17 : 580–588, 1976
 - 48) Schwartzman, G.: A new phenomenon of local skin reactivity to *B. typhosus* culture filtrate.

- Proc. Soc. Biol. Exp. 25 : 560—561, 1928
- 49) 河野邦彦, 鈴木直人, 大西久仁彦, 武者広隆, 小藤田和郎, 奥田邦雄: 肝硬変症における末梢エンドトキシン血症出現機序に関する研究. 肝臓 21 : 1322—1329, 1980
- 50) Kocsar, L. T., Bertok, L. and Varteresz, V.: Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats. J. Bacteriol. 100 : 220—223, 1969
- 51) Keene, W. R., Landy, M. and Shear, M. J.: Inactivation of endotoxin by a humoral component. VII. Enzymatic degradation of endotoxin by blood plasma. J. clin. Invest. 40 : 302—310, 1961
- 52) Skarnes, R. C., Rosen, F. S., Shear, M. J. and Landy, M.: Interaction of endotoxin by a humoral component. II. Interaction of endotoxin with serum and plasma. J. exp. Med. 108 : 685—699, 1958
- 53) Ulevitch, R. J., Johnston, A. R. and Weinstein, D. B.: New function for high density lipoproteins. Their participation in intravascular reactions of bacterial lipopolysaccharides. J. clin. Invest. 64 : 1516—1524, 1979
- 54) Obayashi, T.: Addition of perchloric acid to blood samples for colorimetric limulus test using chromogenic substrate: Comparison with conventional procedures and clinical applications. J. Lab. clin. Med. 104 : 321—330, 1984
- 55) 青木英明, 中尾昭公: 肝硬変症におけるエンドトキシン血症発来機序に関する実験的研究. 日消病会誌 84 : 1103—1109, 1987
- 56) Taro, K., Moroi, T., Hirabayashi, Y., Ikeuchi, T., Endo, O. and Takamura, Y.: Effect of paromomycin sulfate on endotoxemia in patients with cirrhosis. J. clin. Gastroenterol. 4 : 263—267, 1982
- 57) 大元謙治, 山本晋一郎, 井手口清治, 山本亮輔, 古城研二, 齋藤逸郎, 和田あゆみ, 山本真理子, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛, 福嶋啓祐, 有田清三郎: 非代償性肝硬変患者に対する硫酸ポリミキシンBの効果. 肝胆膵 16 : 1039—1046, 1988
- 58) Nolan, J. P. and Leibowitz, A. I.: Endotoxin and the liver. III. Modification of acute carbon tetrachloride injury by polymyxin B—an antiendotoxin. Gastroenterology 75 : 445—449, 1978
- 59) Grun, M., Liehr, H. and Rasenack, U.: Significance of endotoxaemia in experimental “galactosamine hepatitis” in the rat. Acta Hepato-Gastroenterol. 24 : 64—81, 1977
- 60) Beeson, P. B.: Tolerance to bacterial pyrogens ; factors influencing its development. J. exp. Med. 86 : 29—38, 1947
- 61) 矢島義昭: エンドトキシンの生物活性とエンドトキシン血症の臨床的意義. Prog. Med. 7 : 1085—1094, 1987
- 62) 山田龍作, 中塚春樹, 中村健治, 佐藤守男, 玉岡紅一, 竹本和正, 水口和夫, 山口真司, 玉木正男, 門奈文之, 山本裕夫: 肝細胞癌に対する Transcatheter arterial embolization therapy—15例の経験. 肝臓 20 : 595—603, 1979
- 63) 大元謙治, 山本晋一郎, 福嶋啓祐, 井手口清治, 山本亮輔, 古城研二, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛: 肝動脈塞栓術50例の検討. 川崎医学会誌 12 : 11—17, 1986
- 64) 大元謙治, 山本晋一郎, 福嶋啓祐, 井手口清治, 山本亮輔, 日野一成, 大海庸世, 古城研二, 平野 寛: 肝動脈塞栓術 (TAE) 前後の lipid emulsion test の意義. 肝臓 27 : 837, 1986
- 65) 大元謙治: 肝動脈塞栓術後の血中エンドトキシンの動態. 肝臓 29 : 1087—1094, 1988
- 66) Gut, J. P., Steffan, A. M., Anton, M. and Kirn, A.: Kupffer cell functions and frog virus 3 hepatitis in mice and rats. In The reticuloendothelial system and the pathogenesis of liver disease, eds. by Liehr, H. and Grun, M. North Holland, Biomedical Press. 1980, pp. 211—219

- 67) 芝山雄老, 斉藤雅文, 橋本和明, 中田勝次: エンドトキシンによる肝壊死の発生機序—肝循環障害の原
因的役割について. 肝臓 24 : 1242—1251, 1983
- 68) Clemens, M. G. and Chaudry, I. H.: Alterations in hepatic membrane potentials in vivo
during early and late sepsis. *Circ. Shock* 22 : 1—9, 1987
- 69) Spitzer, J. A. and Deacius, I. V.: Effect of endotoxemia and sepsis on intracellular calcium
homeostasis in rat liver. Mitochondrial and microsomal calcium uptake. *Circ. Shock* 18 :
81—93, 1986
- 70) 石山秀一, 塚本 長, 平賀紘一: ラット肝ミトコンドリアの 酸化的磷酸化反応に対する E. coli endo-
toxin の阻害機構. 日外会誌 86 : 23—31, 1986
- 71) Weissmann, G. and Thomas, L.: Studies on lysosomes. I. The effects of endotoxin, endo-
toxin tolerance, and cortisone on the release of acid hydrolases from a granular fraction
of rabbit liver. *J. exp. Med.* 116 : 433—450, 1962
- 72) 吉武英子, 平田公一, 佐藤昇志: ラットにおけるエンドトキシン投与後早期の肝病変発生機序に関する
研究 (2) in vitro における肝実質細胞—Kupffer 細胞相関に関する研究. 札幌医誌 57 : 265—275,
1988
- 73) Maier, R. V. and Ulevitch, R. J.: The response of isolated rabbit hepatic macrophages (H-
MΦ) to lipopolysaccharide (LPS). *Circ. Shock* 8 : 165—181, 1981
- 74) Keller, G. A., West, M. A., Harty, J. T., Wilkes, L. A., Cerra, F. B. and Simmons, R. L.: Mod-
ulation of hepatocyte protein synthesis by endotoxin-activated Kupffer cells. *Ann. Surg.*
201 : 436—443, 1985
- 75) Shedlofsky, S. I., Swim, A. T., Robinson, J. M., Gallicchio, V. S., Cohen, D. A. and McClain,
C. J.: Interleukin-1 (IL-1) depresses cytochrome P450 levels and activities in mice. *Life
Sci.* 40 : 2331—2336, 1987
- 76) 石井裕生, 加藤真三: 肝障害の成因における活性酸素の関与. 医のあゆみ 142 : 739—741, 1987
- 77) Sakaguchi, S., Kanda, N., Hsu, C. C. and Sakaguchi, O.: Lipid peroxide formation and mem-
brane damage in endotoxin-poisoned mice. *Microbiol. Immunol.* 25 : 229—244, 1981
- 78) Ogawa, R., Morita, T., Kunimoto, F. and Fujita, T.: Changes in hepatic lipoperoxide con-
centration in endotoxemic rats. *Circ. Shock* 9 : 369—374, 1982
- 79) Hussain, M. Z., Watson, J. A. and Bhatnagar, R. S.: Increased prolyl hydroxylase activity
and collagen synthesis in hepatocyte cultures exposed to superoxide. *Hepatology* 7 : 502—
507, 1987
- 80) 守田敏洋: エンドトキシン血症ラットの肝臓内過酸化脂質の検討. 麻酔 34 : 656—663, 1985
- 81) 国元文生: エンドトキシン血症に対する脂質過酸化抑制の効果. 麻酔 35 : 84—90, 1986
- 82) Ohmoto, K., Yamamoto, S., Yamamoto, R., Ideguchi, S., Saito, I., Takatori, K., Wada, A.,
Ohumi, T., Hino, K. and Hirano, Y.: Plasma endotoxin and serum lipid peroxide after
transcatheter arterial embolization in liver cancer. *Kawasaki med. J.* 14 : 149—151, 1988
- 83) 尾崎元信, 数佐 哲, 松尾賢二, 大塚幸雄: 実験的肝動脈塞栓術におけるエンドトキシン血症—Co-
enzyme Q₁₀ と Methylprednisolone sodium succinate の効果の比較. 織田敏次監修: エンドトキシ
ン臨床研究の新しい展開. 東京, 羊土社. 1987, pp. 131—141
- 84) 谷口正哲, 竹山廣光, 水野 章, 花井拓美, 品川長夫, 由良二郎, 篠原力雄: Endotoxin の肝障害に関
する実験的検討: 門脈内投与での過酸化脂質生成及びその防御機構について (抄). 日外会誌 89 : 464,
1988
- 85) 有井滋樹, 門田一宣, 板井茂行, 篠置 哲, 柴垣昌史, 戸部隆吉: クッパー細胞とフリーラジカル. 肝胆
脾 16 : 223—230, 1988
- 86) 品川長夫, 由良二郎: 免疫療法. *ICU と CCU* 7 : 687—694, 1983

- 87) Beutler, B., Milsark, I. W. and Cerami, A. C.: Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 229: 869—871, 1985
- 88) Levinson, S. A. and Hume, D. M.: Effect of exchange transfusion with fresh whole blood on refractory septic shock. *Am. Surg.* 38: 49—55, 1972
- 89) Bjorvatn, B., Bjertraes, L., Fadnes, H. O., Flaegstad, T., Gutteberg, T. J., Kristiansen, B. E., Pape, J., Rekvig, O. P., Osterud, B. and Aanderud, L.: Meningococcal septicaemia treated with combined plasmapheresis and leucapheresis or with blood exchange. *Br. med. J.* 288: 439—441, 1984
- 90) 花沢一芳, 谷 徹, 岡藤太郎, 吉岡豊一, 遠藤善裕, 斎ノ内良平, 中根佳宏, 小玉正智, 寺本和雄, 小路久敬: ポリミキシン固定化ファイバー (PMX-F) による微量エンドトキシン中和と抗発熱活性. *人工臓器* 14: 800—803, 1985
- 91) 足立幸彦, 榎本雅一, 山本俊夫: 非代償性肝硬変例のエンドトキシン血症に及ぼす非吸収性抗生物質, ポリミキシンBと硫酸ジベカシンの効果について. 森 亘, 志賀淳治編: 肝疾患あすの話題. 東京, 中外医学社. 1985, pp. 105—109
- 92) 岩崎正高, 神代龍吉, 和田達郎, 前山豊明, 長田英輔, 川口元也, 安倍弘彦, 谷川久一: Endotoxin に対する Polymyxin B の作用について—その臨床的検討. *日消病会誌* 79: 241—248, 1982
- 93) Rogers, M. J. and Cohen, J.: Comparison of the binding of gram-negative bacterial endotoxin by polymyxin B sulphate, colistin sulphate and colistin sulphomethate sodium. *Infection* 14: 79—81, 1986
- 94) Sakaguchi, O., Kanda, N., Sakaguchi, S., Hsu, C. C. and Abe, H.: Effect of α -tocopherol on endotoxemia. *Microbiol. Immunol.* 25: 787—799, 1981
- 95) 今井 真: ショック時における生体内過酸化脂質の変化とその意義及び還元型グルタチオン前処理の影響—臨床的ならびに実験的研究. *北海道医誌* 60: 170—182, 1985
- 96) 児玉正智, 花沢一芳, 谷 徹, 遠藤善祐: エンドトキシン血症の新しい治療法. *救急医* 10: 569—578, 1986