

外科的消化器疾患におよぼす腸管内細菌の影響

—とくに慢性肝障害に伴う内因性エンドトキシン血症の発来について—

日本医科大学第1外科学教室

足立 憲治	田村 仁	樋口 勝美
小西 清二	山口 裕通	山田 智彦
宮原 成子	中尾 充	古川 清憲
田尻 孝	恩田 昌彦	代田 明郎

PATHOGENESIS OF SYSTEMIC ENDOGENOUS ENDOTOXEMIA IN CHRONIC LIVER DISEASE

Kenji ADACHI, Hitoshi TAMURA, Katsuyoshi HIGUCHI, Seiji KONISHI,
Hikomichi YAMAGUCHI, Tomohiko YAMADA, Seiko MIYAHARA, Mitsuru NAKAO
Kiyonori FURUKAWA, Takashi TAJIRI, Masahiko ONDA and Akiro SHIROTA
The First Department of Surgery, Nippon Medical School

索引用語：内因性エンドトキシン血症，肝硬変症，無菌ラット

I. はじめに

ヒトの腸管内には各種の細菌が一定の秩序のもとに定着して居り，栄養物の消化，吸収や胆汁の腸肝循環に代表されるような代謝に強く関与するばかりでなく，外来病原菌の排除など，生体の恒常性を保持するため重要な役割を担っている。ところが，いったんその平衡が乱れると，生体はこの腸管内の細菌及至はその毒素により著しく障害される事実を，わが教室では従来より，イレウス¹⁾，腹膜炎²⁾や胆嚢胆管炎³⁾などの疾病について臨床的，実験的に研究報告してきた。

他方，近年に至って慢性肝疾患の病態と，腸管由来の経門脈の細菌性因子との関連性が盛んに論じられている。とくに，肝硬変症の際には，末梢静脈血中のエンドトキシン（以下 Et と略す）検出率の高いことが報告されている⁴⁾⁵⁾。しかしながら，このように高頻度に検出される内因性 Et 血症における Et 量は当然の事ながら極く微量であり，この様に微量な Et の生体に及ぼす影響についての詳細に関する報告は今までされていない。そこで，今回以下に述べるごとき臨床的，実験的研究を行い若干の知見を得たので報告する。

II. 肝硬変症患者における内因性 Et 血症の発来について

1. 研究対象および方法

1978年から1981年に本施設に入院した食道静脈瘤を伴う肝硬変症患者87例を対象とした。血中 Et の検索には limulus gelation test 法（以下 LGT と略す）を用い，稀釈加熱法にて inhibitor を除去したのち，プレゲル（帝国臓器製）を用いてゲル化反応を行った。

グルカゴン負荷試験は，12時間以上絶食し，早朝より前採血後，グルカゴン（Novo 社，Denmark）1 mg を添付の注射用蒸留水 1 ml に溶解し，グルカゴン 2 $\mu\text{g}/\text{Bw}\cdot\text{kg}$ を経静脈的投与し，5分，10分，20分，30分，40分，50および60分に 1 ml ずつ採血し，ただちに血漿分離後，凍結保存した。なお，採血管にはあらかじめ EDTA \cdot 4Na，5mM を加えた。血漿 cyclic adenosine-3'5'-monophosphate（以下 c-AMP と略す）は，YAMASA c-AMP Assay Kit による radioimmunoassay 法で測定した。

2. 研究成績

1) 各種疾患における末梢血 Et の検索

最近，約4年間の外科的消化器諸疾患々者の末梢血 LGT の結果を見ると，肝硬変症に伴う食道静脈瘤患者 59例では29例，49.2%であるのに対し，汎発性腹膜炎

※第20回日消外会総会シンポジウム
外科的消化器疾患と腸管内細菌

48.1%，イレウス15.6%，胆嚢炎，胆管炎15.2%と感染の機会の多いこれら疾患と比べてもより高率であった(表1)。

2) 末梢静脈血および門脈血 LGT 陽性例の比較(図1)。

末梢静脈血と門脈血を同時に採取しえた36例の食道静脈瘤患者について，そのLGTを比較してみると，門脈血では陽性28例，77.8%と末梢血での陽性19例，52.8%に比べて高率であった(χ^2 検定で $P < 0.05$)。

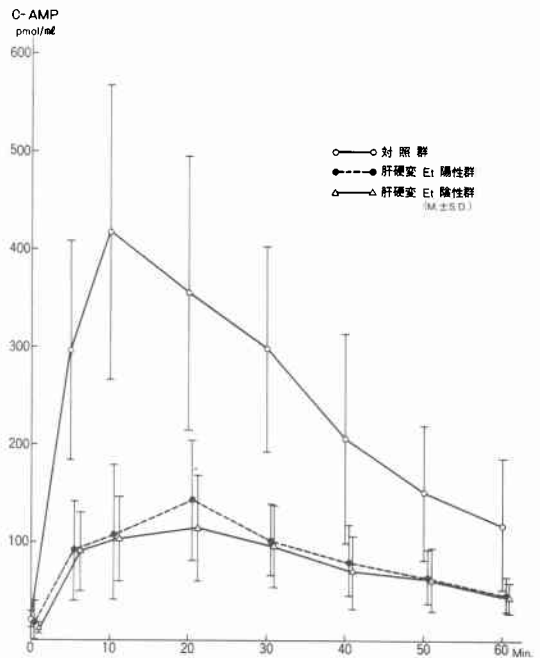
一方門脈血LGT陽性の8例では，末梢血においても全例陰性であった。門脈血LGT陽性例でも，そのゲル化の程度が(+)の8例では，末梢血(+), (++)の各1例を除き6例が陰性であったのに対し，門脈血(++)の7例では，末梢血(++), (++)が各1例，(+)が2例と，陽性例が過半数を占めた。また，門脈血(+++)の13例では，末梢血LGT陽性例は皆無で，(++), (++)と強い陽性を示すものが10例と大多数を占めた。

3. 肝予備能と末梢静脈血LGTの比較

1) グルカゴン負荷試験

食道静脈瘤患者では，対照の非肝障害消化器疾患々々に比べて，60分までの全時点で，低値を持続し，血漿c-AMPの負荷前濃度と最高濃度の比(peak value/basal value: 以下P/B比と略す)を見ても，食道静脈瘤患者12例では 12.35 ± 6.08 と対照群14例の 25.85 ± 12.01 に比較して明らかな低値をとった(student-t-testで $P < 0.05$)。しかしながら，食道静脈瘤患者で

図2 グルカゴン負荷血漿C-AMP値の変動



LGT陽性例と陰性例の間では，全時点を通じ差異がなくP/B比も 12.94 ± 7.95 , 11.86 ± 4.77 と差は認められなかった(図2)。

III. 実験的脂肪肝ラットにおける内因性Et血症の発来とその役割

1. 実験方法

SD系無菌および普通ラットに1%cholesterol 0.5% cholic acidを添加したクレア製CL-2飼料を投与し，実験的脂肪肝を作製した。

投与後12, 24週目にグルカゴン負荷試験を前述の方法で施行後屠殺し，末梢血，門脈血中Etの検索を行った。

また，肝の糖代謝能を検討するため，糖中間体を測定した。すなわち，glucose, fructose-6-phosphate(以下F6Pと略す), glucose-6-phosphate(以下G6Pと略す), fructose-1,6-diphosphate(以下FDPと略す)およびphosphoenolpyruvate(以下PEPと略す)についてNADP⁺-NADPHを補酵素とする反応系を利用した酵素法を用い，340nmの波長にて分光光度計を利用し測定した。

2. 実験結果

1) 血中Etの検索

普通群では脂肪肝食投与前，門脈血において5例中

表1 各種疾患における末梢血エンドトキソンの検索

疾患	例数	リムルステスト陽性率(%)
食道静脈瘤	59	29 (49.2)
汎発性膵炎	81	39 (48.1)
イレウス	64	10 (15.6)
胆嚢胆管炎	33	5 (15.2)
計	237	83 (35.0)

図1 末梢血と門脈血におけるLGTの比較

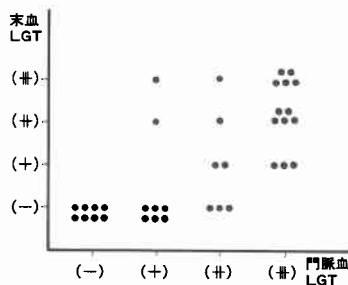


表2 脂肪肝ラットにおけるリムルステスト (LGT) 陽性率

検体 投与日数	無菌群		普通群	
	門脈血	大動脈血	門脈血	大動脈血
前	0/5 (0%)	0/5 (0%)	2/5 (40%)	0/5 (0%)
12週	0/5 (0%)	0/5 (0%)	8/10 (80%)	8/10 (80%)
24週			7/10 (70%)	7/10 (70%)

2例にEt陽性例を認めたが、大動脈血ではその2例も含め全例陰性であったが、投与後は12、24週で大動脈血、門脈血ともに10例中8例及び10例中7例と、大多数が陽性となった。

それに対し、無菌群では脂肪肝食投与前後を通じ、門脈血、大動脈血共に全例陰性であった(表2)。

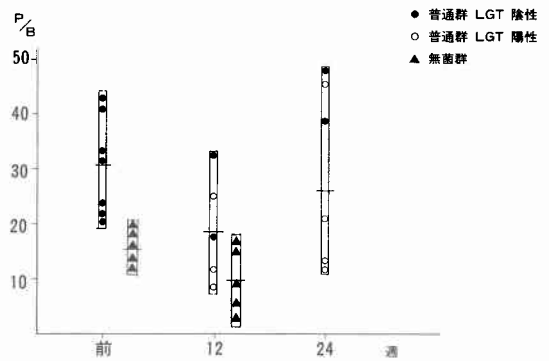
2) グルカゴン負荷試験

グルカゴン負荷後のc-AMP値の変動をP/B比でみると、無菌群、普通群共に一定の傾向は見られなかった。しかしながら、普通群のうち、大動脈血Et陽性例では陰性例に比べて低値をとるものが多く認められた(図3)。

3) 肝糖代謝能の変動

F6P, G6P, glucose値の変動は全く同様の傾向を示した。すなわち、脂肪肝食投与後は無菌群、普通群と

図3 脂肪肝ラットにおけるGlucagon負荷cyclic-AMP値(P/B)の変動



もに低下の傾向を示したが、普通群のEt陽性例では陰性例に比べてより低値をとるものが多く認められた(図4)。それに対し、FDP値では逆に、Et陽性例で高値をとる傾向を認め、PEP値では無菌群に比べて普通群で低値をとる傾向を示し、その中でもEt陽性例では、陰性例に比べて、より低値をとった(図5)。

4) 肝組織像

脂肪肝食投与後の肝組織学的変化をHE染色にて検討した。

普通群においては、投与後12週目、グリソン鞘周辺部の肝細胞にビマン性空胞変化を認めたが、中心静脈周辺には正常細胞も数多く存在した。それに対し、無

図4 脂肪肝ラットにおける肝糖代謝

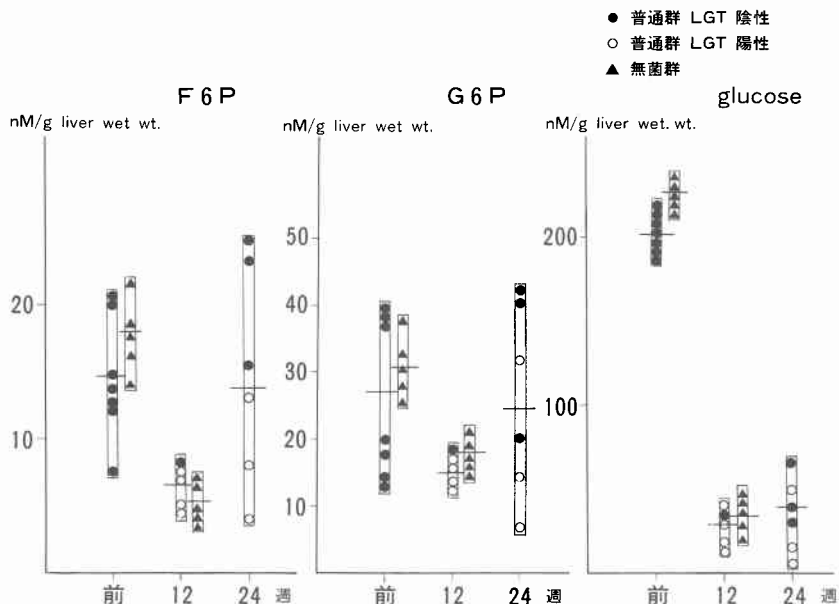
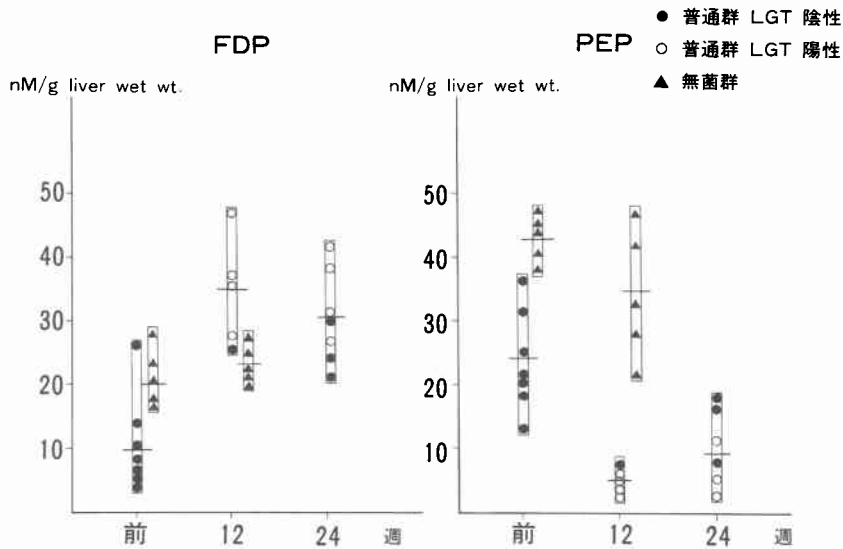


図5 脂肪肝ラットにおける肝糖代謝



菌群の12週目では、グリソン鞘周辺のみならず、中心静脈周辺にまでおよぶ広範な強い細胞質の空胞変化や膨化が認められるばかりでなく、一部では細胞の蛋白変性も認められた。

IV. 考察ならびに結論

カプトガニの amebocyte を用いた LGT による Et の検出は Levin⁶⁾ により開発・発表されて以来、その特異的な鋭敏度と操作の簡便性により今日広く endotoxemia の診断に用いられている。

それに伴い、Gram 陰性桿菌に由来する各種疾病の病態解明は著しい進歩を遂げた。

腹部外科領域においても、急性閉塞性化膿性胆管炎 (AOSC) のごときショックを伴う重篤な病態もその増悪因子としての Et の役割は、ほぼ解明されたといつてよい⁹⁾。

ところで一方、健康人においても、その腸管内には常に致死量以下の Et をその腸内細菌叢とともに保有しており、これらの腸内細菌は Vitamine 合成、外因病原細菌の排除など、常に重要な役割を果しており、全く生体に害を与えない。ところが、イレウス¹⁰⁾、閉塞性黄疸⁹⁾ などにより、腸内細菌の恒常性機能の保持機構が破綻すると、腸管内の内因性 Et は腸管粘膜の barrier を通過して門脈内に侵入し、肝に移送され、肝の Et 処理能を上回る程の量に達したり、肝の細網内皮系機能そのものが障害されたりすると、大循環血中に出現すると考えられる。

ところで一方、腹部外科で取り扱う機会の最も多い慢性肝疾患としては、肝硬変症や、Banti 病に伴う門脈圧亢進症—食道静脈瘤がある。そこで今回 LGT をクロホルム法より、稀釈加熱法に改めた最近約 4 年間のデータをまとめてみると、食道静脈瘤においては、汎発性腹膜炎、イレウス、胆嚢胆管炎など細菌感染の伴いやすいこれら諸疾患に比べても高率であり、この結果は外科側から見て奇異の念を禁じえない。

また、この様に高率に検出される内因性 Et の肝硬変症におよぼす影響としては、食道静脈瘤破裂促進因子⁹⁾ となったり、腹水貯留因子¹⁰⁾¹¹⁾ となるとの説が散見される。しかしながら、これらの説は、いずれも臨床的経験をもとに発表されたもので、その発症機序についての詳細は全く不明である。事実、今回我々が検討した臨床例においても、グルカゴン負荷試験のデータが示すごとく肝の予備能力は Et 陽性例と陰性例の間に全く差異を認めなかった。

しかしながら、このような極く微量の Et による生体障害作用についての臨床的検討については、おのずから一定の制約がある。そこで実験的に脂肪肝を作製、検討した。

その結果の詳細はすでに本文中に述べたところであるが、臨床例では差異を認めなかったグルカゴン負荷 c-AMP 値を指標とする肝予備能力は Et 陽性例では陰性例に比べて低下する傾向も明らかになした。この差異についての詳細は不明であるが、予備実験で

行った四鉛化炭素投与による実験的肝硬変症においてはグルカゴン負荷 c-AMP 値は内因性 Et の有無により左右される余地の無い程に著しく低下した。このことより、臨床例でも一般に内科的に取扱われる機会の多い食道静脈瘤を伴わない比較的軽度の肝硬変であるとか、脂肪肝などで今後検討する必要があるものと思われた。またこの様な肝予備能力を低下せしめる主たる因子としては、肝細胞内の代謝系の乱れが予想された。

そこで、この代謝系の障害を解明するため、肝細胞内糖代謝について、その中間体である F6P, G6P, glucose, FDP, PEP を測定してみると、Et 陽性群では陰性群と較べてより強い糖代謝系の障害が認められた。しかしながら、今回の実験では例数が少なく統計学的に有意差を認めるまでには至らなかったため、今後症例数を増やし検討したい。

以上今回なした一連の研究成績より、腸管内細菌叢が cholesterol および cholic acid の代謝に強く影響し、腸内細菌叢の欠如せる無菌動物では、普通動物に比べてより強い脂肪肝となることを確認した。反面、普通動物においては脂肪肝に伴う肝障害を併発すると、腸管内細菌由来の Et は肝細胞内皮系では処理できず、全身性の Et 血症へと発展し、それに伴い肝の予備能や代謝系の障害を併発し、肝はさらに障害されていく事実を確認し得た。

文 献

- 1) 足立憲治, 鄭 淳, 田代真一ほか: イレウスの病態とエンドトキシン. クリニカ 7: 167-172, 1980
- 2) 和田英理: 胆汁性腹膜炎の病態におよぼす細菌性

- 因子に関する研究. 日消外会誌 14: 59-68, 1981
- 3) 足立憲治: 胆道外科と感染—とくにエンドトキシン血症の発来について—. 日消外会誌 13: 968-974, 1980
- 4) Prytz H, Holst-Christensen B, Korner B et al: Portal venous and systemic endotoxemia in patients without liver disease and systemic endotoxemia in patients with cirrhosis. Scand J Gastroent 11: 857-863, 1976
- 5) 多羅尾和郎: 肝硬変とエンドトキシン. 最新医 35: 518-521, 1980
- 6) Levin J, Bang FB: The roll of endotoxin in the extracellular coagulation of limulus blood. Bull Johns Hopkins Hosp 115: 265-274, 1964
- 7) 別所昭憲: 単純性イレウスの病態に及ぼす腸管内細菌の影響—特に無菌動物を使用して—. 日外会誌 82: 96-107, 1981
- 8) 足立憲治, 田代真一, 鄭 淳: 閉塞性黄疸に及ぼす腸管内細菌—とくにその endotoxin の影響について. エンドトキシンの基礎と臨床. 東京, 羊土社, 1980, p89-99
- 9) 多羅尾和郎, 諸井球樹, 高邑裕太郎ほか: 肝硬変症の腹水増加, 食道静脈瘤破裂促進因子としてのエンドトキシン血症と非吸収性抗生剤 (paromomycin sulfate) によるその治療. エンドトキシン血症の病態. 東京, 羊土社, 1980, p101-112
- 10) Chien S, Sinclair DG, Dellenback RJ et al: Effect of endotoxin on capillary permeability to macromolecules. Am J Physiol 207: 518-522, 1964
- 11) 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. 第一報. 肝硬変症患者の腹水中のエンドトキシンについて. 日消病会誌 73: 1366-1372, 1976