

# エンドトキシン投与後の肝病変発生について —分離肝細胞および分離 Kupffer 細胞を用いた in vitro における 生化学的・形態学的研究—

札幌医科大学第1外科<sup>1)</sup>

同 第1病理<sup>2)</sup>

平田 公一<sup>1)</sup> 江端 俊彰<sup>1)</sup> 白井 朋明<sup>1)</sup> 丸山 芳朗<sup>1)</sup>  
及川 郁雄<sup>1)</sup> 小柴 博文<sup>2)</sup> 白松 幸爾<sup>1)</sup> 早坂 滉<sup>1)</sup>

## STUDIES ON RAT LIVER FOLLOWING ENDOTOXIN ADMINISTRATION —BIOCHEMICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY ON THE CHANGES OF ISOLATED HEPATOCYTES AND KUPFFER CELLS IN VITRO—

Koichi HIRATA<sup>1)</sup>, Toshiaki EBATA<sup>1)</sup>, Tomoaki USUI<sup>1)</sup>, Yoshiro MARUYAMA<sup>1)</sup>  
Ikuko OIKAWA<sup>1)</sup>, Hirofumi KOSHIBA<sup>2)</sup>, Koji SHIRAMATSU<sup>1)</sup>,  
and Hiroshi HAYASFKA<sup>1)</sup>

Ist Department of Surgery, Sapporo Medical College<sup>1)</sup>

Ist Department of Pathology, Sapporo Medical College<sup>2)</sup>

エンドトキシン (ET) による肝細胞変化における Kupffer 細胞の果たす役割について、実験的にラットの分離肝細胞と分離 Kupffer 細胞を用いて in vitro で検討した。肝細胞変化の指標として電子顕微鏡を用いた形態学的所見とリソソーム酵素活性 (酸性ホスファターゼ・酸性 DNAase) と糸粒体 ATPase 活性変化を用いた。

その結果、血清因子の存在下で ET と Kupffer 細胞を反応させて肝細胞を加えると、肝細胞に形態学的変性所見とリソソーム酵素活性の上昇をまた糸粒体 ATPase 活性の代償性上昇あるいは消耗性低下 (前者は短期間培養, 後者は長期間培養) が生じた。一方、Kupffer 細胞にあらかじめ大量の zymosan を貪食させておくと、既述の変化がかなり抑制された。

以上の結果から ET と Kupffer 細胞の反応の結果、肝細胞障害性が生じ、また大量の zymosan 処理でこれがかなり抑制されることが理解できた。

索引用語: エンドトキシン, 肝細胞変性, Kupffer 細胞, 細胞障害性

### はじめに

幾種かの肝疾患においては肝予備能とくに Kupffer 細胞の処理能が低下していることが多く、このため外科手術療法前後にしばしば endotoxemia の発生を認め<sup>1)~3)</sup>、一層肝病変を増悪させることを経験している。

エンドトキシン (ET) 血症時の肝病変発生に関与する因子について、数多くの in vivo における研究報告が成されており、われわれもラットを用いて ET 投与後の肝変化を経時的に光・電顕的、組織化学的あるいは生化学的に検索してきた<sup>4)~6)</sup>。その結果、肝実質細胞

(以下肝細胞)変性は顕著な類洞内病変に随伴あるいは連続して発生すると考えられた。しかしこの in vivo における実験方法は必ずしも厳密に肝障害因子検索の目的を果たしていないともいえる。というのは、肝内には ET の標的細胞としての貪食能をもつ Kupffer 細胞、類洞内皮細胞が多数存在し、しかもそれらの細胞は ET 投与後きわめて早期に反応しており、ET 血症発現後一定時間経た肝内でこれらの細胞が相互に肝細胞障害性に作用している可能性もあり、またその混在した病態を把握している危険性があるためである。

そこで今回は ET 投与時に発生する肝細胞障害に対して、肝内非実質細胞とくに Kupffer 細胞が関与しているか否かを明らかにする目的で、分離肝細胞・分離 Kupffer 細胞を用いて *in vitro* における ET との相互関連性から形態学的・生化学的に検討した。

#### 実験材料および方法

##### (1) 肝細胞分離および Kupffer 細胞分離方法

動物は Wistar 系雄ラット (生後 2 カ月) を使用し、細胞分離前 12 時間を絶食とした。なお水分については自由に与えた。肝細胞分離は Howard et al. の方法<sup>7)</sup> に従って分離した。ラットをエーテル麻酔下で開腹し門脈から 0.05% コラゲナーゼ (type I, Sigma) と 0.10% ヒアルロンダーゼ (type I, Sigma) を含んだ  $Ca^{++}$ -free の Hanks 氏液で灌流した。肝を細片とし上記酵素を含む Hanks 氏液でさらに 37°C で 60 分間 incubate した。ナイロンメッシュで濾過し、低速遠心により分離した。

Kupffer 細胞分離法は Mills and Zucker-Franklin の方法<sup>8)</sup> に準じた。消化液としては 0.25% の pronase (科研化学工業社製) を含む Eisen 氏緩衝液 (pH 7.4) を用いた。ラットをエーテル麻酔下で開腹し、肝を門脈から消化液で灌流後摘出し細片にした。30ml 消化液中に細片を入れ 37°C のもとマグネティックスターラーで 60 分間攪拌した。消化液を pH 7.4 に維持する目的で 0.5N NaOH を使用した。なお遊離してきた裸核を消化する目的で 0.5mg DNase (Sigma) を攪拌開始後 20 分および 40 分後に加えた。消化液を鋼性ガーゼで濾過し未消化の組織片を除去し、その濾液を 1,500rpm で 5 分間遠心し、沈渣を MEM 199 (pH 7.4, 1%-glutamine, 10% fetal calf serum) に、混和し、1,500 rpm 5 分間遠心を 2 度繰り返して洗浄した。この沈渣を bovine serum albumin (Sigma) による不連続密度勾配遠心分離法で Kupffer 細胞分画を得た。

##### (2) *in vitro* における実験方法

用いた ET は *E. coli* lipopolysaccharide 0127 : B8 (Difco Lab.) である。培養液 (3ml) の中に ET を総量 300 $\mu$ g 混入した。用いた培養液は Krebs-Ringer bicarbonate 緩衝液 (5% fetal calf serum, pH 7.4) を用い 95%  $O_2$ ・5%  $CO_2$  のもとで incubate した。incubation 時間は、30分と 90分の 2 群について検討した。

zymosan 前処置は *in vivo* のもとで行った。まず 0.5 mg zymosan/0.2ml を経静脈的に投与し 48 時間後に 1.0mg zymosan/0.5ml を腹腔内に追加投与した。そ

してその 24 時間後に ET 処理あるいは Kupffer 細胞分離を行った。なお *in vivo* で ET 処理を行った場合、投与時点と細胞分離操作あるいは採血操作までの間隔を 6 時間とした。*in vitro* で用いた細胞数は Kupffer 細胞で  $3 \times 10^6$  個/dish、肝細胞数で  $5 \sim 7 \times 10^6$  個/dish とした。

##### (3) 酵素活性測定方法

$\beta$ -glucuronidase 活性測定方法は Fishman et al. の方法<sup>9)</sup> に従い、アルカリ液可溶成分を室温で 420nm のもとで比色定量した。

Acid DNAase 活性は Barrett の方法<sup>10)</sup> に従い、基質としては calf thymus DNA を用いた。

糸粒体 ATPase 活性は、まず小田らの方法で糸粒体分画を取り出した後糸粒体浮遊液を作り 66mM NaCl, 33mM KCl, 5mM  $MgCl_2$ , 15mM tris-HCl (pH 7.4) の反応液中で 5mM ATP を添加して 37°C 10 分間反応させ、氷冷した 10% TCA を加えて反応を止め、直ちに Pi 量を測定した。なお total ATPase 活性測定に対しては  $1.25 \times 10^{-5}$ M 2,4-dinitrophenol (DNP) を添加することで測定した。

##### (4) 電顕の検索

試料細胞を細毛管に吸入し低速遠心を行い、沈渣を 2.5% glutaraldehyde (0.25M sucrose, 0.1M cacodylate pH 7.4) で固定した後 2% Osmium で後固定した。超薄切片は酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色を行った後鏡検に供した。

#### 実験結果

*in vivo* および *in vitro* における実験群を表 1 に示した。なお 30 分および 90 分 incubation 後における対照群肝細胞の viability は trypan blue 染色法でいずれも 92~93% 以上であった。

##### (1) 分離肝細胞・非実質細胞の酵素活性

表 2 に示した  $\beta$ -glucuronidase, Acid DNAase 活性値は、分離後 30 分におけるそれを示したものである。

表 1 各グループの実験条件

グループ	実験条件
1	マウスを <i>in vivo</i> で ET 処理
2	無血清培養液中で正常肝細胞と ET を同時に培養
3	血清を含む培養液中で正常肝細胞と ET を同時に培養
4	血清を含む培養液中で Kupffer 細胞を培養後、その上清中で正常肝細胞を培養
5	<i>in vivo</i> で ET 処理後、その血清中で正常肝細胞を培養
6	マウスをザイモザンで前処理後グループ 5 と同一実験を施行
7	血清を含む培養液中で Kupffer 細胞と ET と同時に培養後、その上清中で正常肝細胞を培養
8	Kupffer 細胞をザイモザンで前処理後グループ 7 と同一実験を施行

表2 分離細胞における酵素活性および蛋白量の分布

	肝実質細胞	肝非実質細胞	P>
$\beta$ -グルクロニダーゼ n moles/min/10 <sup>6</sup> cells	9.8 ± 0.3	3.4 ± 0.4	0.01
n moles/min/mg protein	4.1 ± 0.2	20.8 ± 2.1	0.001
酸性デオキシリボヌクレアーゼ n moles/min/10 <sup>6</sup> cells	12.8 ± 1.5	9.9 ± 1.3	0.05
n moles/min/mg protein	5.8 ± 0.6	53.6 ± 4.1	0.001
蛋白量 μg/10 <sup>6</sup> cells	2190 ± 180	189 ± 13	0.001

一定細胞数あたりの酵素活性値は、二者の酵素においてはいずれも肝細胞で高く、 $\beta$ -glucuronidase で約2.6倍、acid DNAase で約1.3倍を示した。肝細胞は非肝細胞(Kupffer細胞分画)に比べ約11.6倍の蛋白量を含むため、単位蛋白量当たりの酵素活性は、逆に Kupffer細胞分画で高かった。すなわち  $\beta$ -glucuronidase で約5.0倍 acid DNAase で約9.2倍を示した。

(2) 各実験群における分離肝細胞リソソーム酵素活性の変化

Group 1は in vivo で ET 処理した後一定時間後に肝細胞を分離したものである。対照群に比べて  $\beta$ -glucuronidase 活性は約2.5倍、acid DNAase 活性は約2.1倍の上昇を示した。Group 2と Group 4においては酵素活性変化はなく、対照群とほぼ同値を示した。Group 3は Group 2の条件に血清を加えたものであるが、Group 2で酵素活性に変化がなかったのに対し、Group 3でわずかな上昇を認めた。この活性変化の幅は他の変化のみられた群に比べて量も少なかった。Group 5と Group 6においては in vivo でマウスを ET 処理して得た血清の分離肝細胞へ与える影響について検討したものである。後者については ET 処理前に zymosan 処理を加えている。両方の Groups においてリソソーム酵素活性の上昇を認めたが、Group 6においてはその上昇率が低く Group 5の65~70%値であった。対照群と比較して、Group 5で2.2~2.4倍、Group 6 1.5~1.8倍であった。Group 7と Group 8の組み合わせにより ET と Kupffer細胞を in vitro で incubation した反応液の肝細胞へ与える影響を zymosan 前処置 Kupffer細胞群 (Group 8) と非処置群 (Group 7) で比較検討した。

Group 7においては対照群と比べ、acid DNAase 活性が2.5倍、 $\beta$ -glucuronidase 活性が3.2倍に上昇した。しかし Group 8においてはそれぞれ2.1倍、1.8倍の上昇で Group 7と比較すると16~44%減であった (表3)。

(3) 肝細胞糸粒体 ATPase 活性の変化

異なる incubation 時間 (30分および90分) における

表3 各実験群における肝実質細胞リソソーム酵素活性の対照群に対する相対活性

グループ	$\beta$ -グルクロニダーゼ	酸性デオキシリボヌクレアーゼ
1	+2.5	+2.1
2		
3	+1.2	+1.3
4		
5	+2.4	+2.2
6	+1.8	+1.5
7	+3.2	+2.5
8	+2.1	+1.8

数値は平均値の相対比を示す

latent ATPase 活性と DNP-stimulated ATPase 活性を測定し Group 2, 3, 5, 6, 7, 8 について比較検討した。

30分での実験結果を比較すると DNP-stimulated ATPase 活性は全 Groups 間で有意差はなかったが、latent ATPase 活性については変化が認められた。ただし Group 2における活性値は対照群と差がなかった。Group 3および5~8で latent ATPase 活性は明らかに有意な増加を示し、とくに Group 5と7のそれは対照群値の150%以上を示した。

90分における latent ATPase 活性値は、Group 2で30分における場合と同様に活性変化が無いのに対し、ほかの Group においては30分 incubation の活性値より低値を示し、とくに Group 5, 6, 7の低下は著しかった。DNP-stimulated ATPase 活性は、Group 2で変化がないのに対し、ほかの Group では、ATPase 活性値と同様に低値を示した。とくに Group 5および7で著しく、対照群値の65~70%であった (表4)。

(4) 形態学的検索結果

肝細胞あるいは Kupffer細胞分離直後のいわゆる対照群としての形態については既に報告済みなので今回は省いた<sup>11)12)</sup>。

肝細胞の形態学的変化は Groups 5~8において著しかった。胞体は凝縮し、多数の変性空胞、ライソソーム

表4 各実験群における肝実質細胞糸粒体 ATPase 活性変化

グループ	30分培養		90分培養	
	latent	total	latent	total
コントロール	0.17 (0.01)	0.81 (0.01)	0.18 (0.01)	0.80 (0.02)
2	0.18 (0.01)	0.80 (0.01)	0.17 (0.01)	0.82 (0.01)
3	0.22 (0.02)	0.84 (0.02)	0.20 (0.01)	0.73 (0.01)
5	0.24 (0.02)	0.82 (0.02)	0.14 (0.01)	0.58 (0.04)
6	0.22 (0.01)	0.81 (0.01)	0.17 (0.02)	0.68 (0.02)
7	0.26 (0.02)	0.83 (0.02)	0.14 (0.01)	0.52 (0.02)
8	0.21 (0.02)	0.80 (0.01)	0.20 (0.02)	0.68 (0.02)

単位: PI  $\mu$ moles/mg protein/min. ( )内数値は s.e.m.

ムの出現, 小器官の崩壊が著しく, 細胞内構造はほとんど正常構造を失っていた. しかし microvilli は維持されており, 細胞膜の連続性も失っていない細胞が大部分を占めた. 以上の所見 (図 1) が共通に観察された終末像であるが, 比較的膨大化した細胞においては粗面小胞体構造および糸粒体のそれも変性所見を著しく呈してはいたが, 判別可能であった (図 2). ET と Kuffer 細胞を incubation すると Kupffer 細胞は偽足を著しく発達させ, 不整形を示すライソソームを多数有した (図 3). しかし糸粒体はほぼ正常で多数の vesicle と貪食空胞とは明らかに鑑別できた.

zymosan で前処置した Kuffer 細胞と ET を incubation すると Kupffer 細胞は, 胞体の周辺に無構造物質を含み, かなりの細胞において細胞膜の連続性を失っていた. 胞体は全体的に凝集し, 小器官の占める割合も少なく偽足も未発達であった. 細胞周辺には, 細胞内小器官が散在していた (図 4).

なお図 5 は分離正常肝細胞から分離した糸粒体分画の電顕像である. クリステはその構造を維持し, 基本的に二重膜構造も大部分の糸粒体に存在した. なお数パーセント未満ではあるがライソゾーム様の dese

図 2 Group 6 の肝細胞電顕所見  
粗面小胞体および糸粒体構造の変性が主体で, いずれも膜構造だけが遺残している. ×37,800

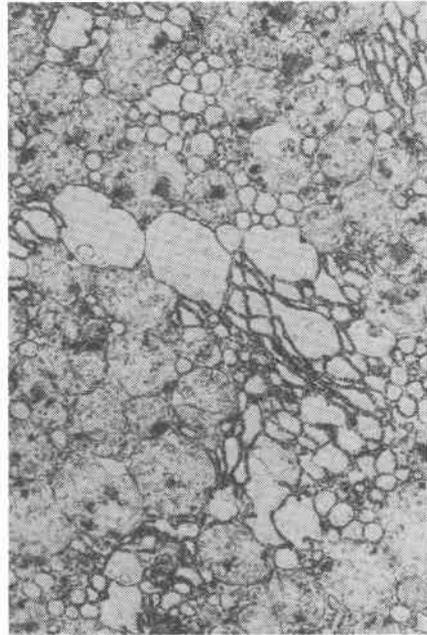


図 1 Group 7 の肝細胞電顕所見

細胞膜の連続性および Microvilli は維持されているが, 細胞内には各種の空胞が多数出現し, 個々の構造を失っている. ×5950



図 3 Group 7 の Kupffer 細胞所見  
ライソソームの増加を認める. 糸粒体をはじめ細胞内小器官構造はよく維持されている. ×18,800

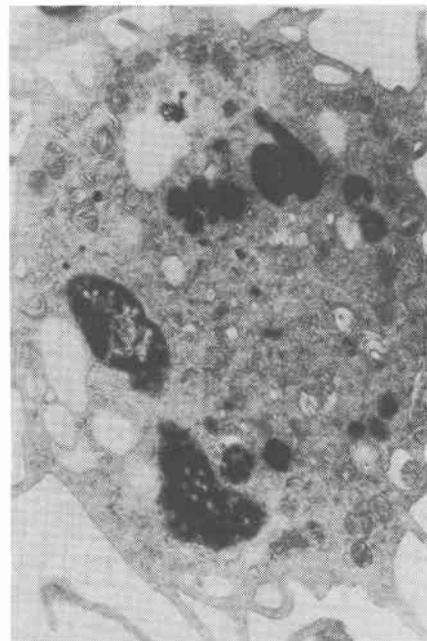


図4 Group 8のKupfferの細胞電顕所見  
Zymosanの食食と胞体の膨化を認め細胞周辺に  
小器官が散乱している。×8,200

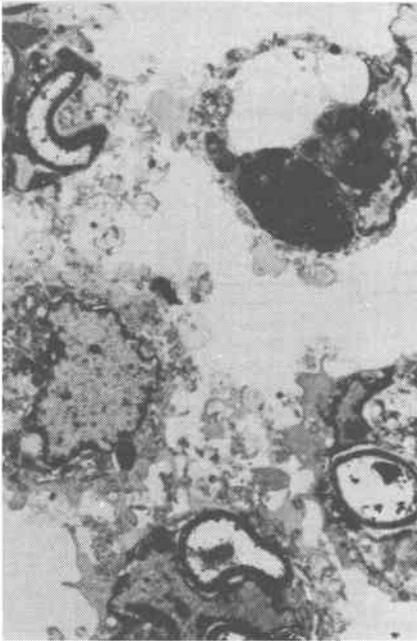
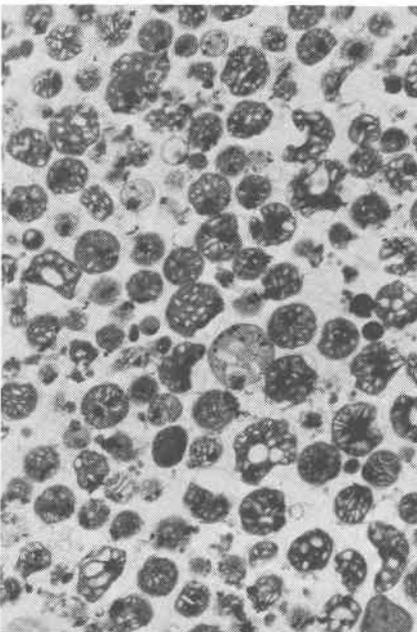


図5 正常肝細胞からの分離糸粒体分面  
ライソソーム様構造物のわずかな混在を認め  
る。×37,800



bodyの混在が認められた。変性肝細胞から分離した糸粒体は、膜構造の破壊、クリステの消失などほとんど原型をとどめていなかった。

### 考 察

われわれは今日までラットを用いた *in vivo* における生化学的・形態学的実験結果から ET 投与後の肝細胞変性は、類洞内細胞とくに Kupffer 細胞、好中球、血小板等の変化・凝集に引き続いて発生することを確認している<sup>4)~6)</sup>。しかしながらその反応形式には個体間で、著しい差があり、単に一定の処理能を超えてなお流血中に存在する ET が肝細胞に直接作用するという機構とは別の因子の関与が充分考えられる。この直接作用の有無を検討するために *in vitro* の実験系で肝スライス (200 $\mu$ m 厚) を用いて ET 混在の培養液中で incubation し、形態学的変化が肝スライス構成細胞に発生しているか否かを検索した結果、高濃度の ET を培養液中含んでいるにもかかわらず、形態学的にはほとんど変化がなく、かつグリコーゲン量も低下していないことを確かめている<sup>13)</sup>。したがって ET の直接肝細胞障害性は *in vivo* における病変の主因でないと思われ得た。今回の生化学的な実験結果でも上記の肝スライスを用いた実験条件とほぼ同じである Group 2 の結果が対照群とほとんど差がなかったことから上記の結果は支持されるべきものと考えられる。このように ET の直接作用が主因でないと考えられるならば、*in vivo* における形態学的変化に基づくと、類洞内変化に主因があると考えらるべきであろう。そのひとつとして類洞内血栓形成<sup>14)</sup>を、そしてほかのひとつとして Agarwal et al.<sup>15)</sup>の唱える肝細胞—Kupffer 細胞の相互作用をあげることができよう。血栓形成防止剤としてのヘパリン前投与で肝細胞変性の発生をある程度抑えることができるのは事実である<sup>13)</sup>。しかしそれだけで血栓形成に主因があると断定することはむづかしい。今回の分離細胞を用いた *in vitro* の実験目的はこの問題点を明らかにする点にあった。

incubation 時間を30分と90分の二点で検討した理由としては *in vivo* における形態学的検索結果で、ET 投与後1~2時間後から著しい肝変化が発生すること、および類洞内病変発生は ET 投与後30分以前には観察されなかったため、ET により類洞内細胞変化が発生するまでの時間として30分を、類洞内細胞が ET と十分に反応し終える時間として90分を選択した。

以上のような実験目的・実験条件にふまえて今回の実験結果を分析すると、まず第1に ET との細胞反応

を発現させるには血清因子の関与が必須であること、第2にETの肝細胞直接障害性はきわめて軽微な範囲にとどまること、第3にKupffer細胞とETをincubationした培養液中に肝細胞障害因子が存在すること、第4にin vivoでETを静注して一定時間後に得た血清中にも肝細胞障害因子が存在すること、第5にin vivoおよびin vitroの条件下でzymosan前処置を行うと血清中および培養液中の肝細胞障害性をある程度抑制できる、などの点をあげることができる。

血清因子の関与については従来から数多くの報告があり、ライソソーム酵素<sup>16)</sup>による障害、アラキドン酸代謝産物などに関する研究<sup>17)</sup>が多い。最近、早坂<sup>18)</sup>はラット肝においてETと補体のcomplexがKupffer細胞や類洞内皮細胞に作用した結果、一連の細胞障害反応が発生する可能性を指摘している。今回のin vitroにおける実験結果は早坂の示唆した点にはほぼ合致するものといえよう。なぜならばETの細胞障害性は血清因子の関与を必須としており、すなわち補体の重要性を推定させる結果であることETおよびETのKupffer細胞との反応が肝細胞障害発生に重要な因子となっていることなどである。zymosan前処置が、ETによる肝細胞障害性を抑制することについては今回十分な検索が成されていない。分離したKupffer細胞分画の電顕像で、それぞれの細胞がzymosanを貪食しているのが確認されており、その結果として外因的にETを血中に投与してもKupffer細胞のETに対する反応は、zymosan貪食前に比べかなり低下していると予想される。したがってETとKupffer細胞の血中内反応産物も低下すると考えられる。

以上今回は、in vivoにおける実験条件の限界性を克服すべき点についてin vitroの実験系で検索した。

### 結 語

ETの肝細胞に対する障害性について、分離肝細胞、分離Kupffer細胞を用いてin vitroの条件下で検索した。

(1) 血清の存在のもとでETの細胞障害性が生じる。

(2) ETの肝細胞障害性は、直接作用としては極めて軽微で、むしろKupffer細胞を介して増強する。

(3) Kupffer細胞をzymosanで前処置するとETとKupffer細胞の反応後に生じる肝細胞障害性をある程度抑制できる。

などの点が明らかになった。

### 文 献

- 1) 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。一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の細菌性因子に関する研究成績を中心として。最新医 35: 485—496, 1980
- 2) Prytz H: Portal venous and systemic endotoxemia in patients without liver disease and systemic endotoxemia in patients with cirrhosis. Scand J Gastroent 11: 857, 1976
- 3) 多羅尾和郎: 肝硬変とエンドトキシン。最新医 35: 518—521, 1980
- 4) 平田公一, 横川金弥, 奥 雅志ほか: エンドトキシン投与後の肝病変発生について。一(1)。形態学的・生化学的・組織化学的研究。麻酔 29: 1463—1469, 1980
- 5) 平田公一, 横川金弥, 奥 雅志ほか: エンドトキシン投与後の肝病変発生について。一(2)。肝実質細胞内フィブリノーゲン産生能と血中FDP値の変化について。麻酔 29: 1625—1630, 1980
- 6) Hirata K, Kaneko A, Ogawa K et al: Effect of endotoxin on rat liver. Analysis of acid phosphatase isozymes in the liver of normal and endotoxin-treated rats. Lab Invest 43: 165—171, 1980
- 7) Howard RB, Christensen AK, Bibbs EA et al: The enzymatic preparation of isolated intact parenchymal cells from rat liver. J Cell Biol 35: 675—684, 1967
- 8) Mills MM, Zucker-Franklin D: Electron microscopic study of isolated kupffer cells. Am J Path 54: 147—166, 1969
- 9) Fishman WH, Kato K, Anstiss CL et al: Human serum  $\beta$ -glucuronidase: Its measurement and some of its properties. Clin Chim Acta 15: 435—447, 1967
- 10) Barrett AJ: Lysosomal enzymes. In Lysosomes. (Edited JT Dingle), A Laboratory Handbook, I. North-Holland Pub. Co., Amsterdam and London, 1972, p114—115
- 11) 平田公一, 金子愛子: エンドトキシン投与時におけるラット肝病変の研究。(1)。分離した肝実質細胞および非実質細胞におけるリソソーム酵素活性と酸性ホスファターゼのアイソザイムパターン。札幌医誌 47: 365—390, 1978
- 12) 平田公一, 丸山芳朗, 白井朋明ほか: 細菌性内毒素の肝リソソーム脆弱化における肝実質細胞—Kupffer細胞の相互作用。エンドトキシンの基礎と臨床。(織田敏次, 山本祐夫編集), 1983, p119—128
- 13) 平田公一, 横川金弥, 奥 雅志ほか: エンドトキシン

- ン投与後の肝病変発生について。(3)。ヘパリン前投与効果と *in vitro* 条件下における形態学的研究。麻酔 30 : 32—37, 1981
- 14) 平間敏憲, 小川勝洋 : エンドトキシン投与時におけるラット肝病変の電子顕微鏡的研究。札幌医誌 46 : 425—447, 1977
- 15) Agarwal MK : An intergrative analysis of endotoxic reactions. *Naturwissenschaften* 62 : 167—171, 1975
- 16) Weissmann G, Thomas L : Studies on lysosomes. I. The effects on endotoxin, endotoxin tolerance and cortisone on the release of acid hydrolase from a granular fraction of rabbit liver. *J Exp Med* 166 : 433—450, 1962
- 17) Electcher JR, Ranwell PW, Herman CM : Prostaglandins and the hemodynamic course of endotoxin shock. *J Surg Res* 20 : 589—594, 1976
- 18) 早坂 洸 : 細菌性ショックとエンドトキシン血症。外科 44 : 1160—1168, 1982
-