日消外会誌　23（12）：2728～2734，1990年

食道癌術後のエンドトキシン血症に関する検討
―免疫療法の効果を中心に―

防衛医科大学校第2外科
米川　甫　島　伸吾　後藤　正幸　森崎　善久
吉住　豊　杉浦　芳章　田中　勧

胸部食道癌患者を対象に手術前後の血中endotoxin（Et）を測定し，OK432による術前免疫療法が術後の高Et血症を抑制することを明らかにした．

1）術前に免疫療法を行わなかった10例のEtは術前13.9pg/mlであり，術直後から第1病日の37.0pg/mlをピークとして第5病日まで有意な増加がみられた．

2）術前にOK432を5KEずつ4～6回皮内投与した7例では手術前後のEtには有意な変化が認められなかった．

3）両群を比較すると第1・3病日のEtは免疫群において有意に低値であった．

4）しかし術前後の血小板数，補体（CH_{50}），顆粒球エラスターゼ，血液ガス（RI）は術前免疫療法の有無で差がなかった．

5）この理由として，①食道癌術後のEtの増加の程度は臨床経過に影響するほど大きくない，②現在のEtの測定法に問題があるという2つの可能性が考えられた．

Key words: endotoxin, postoperative endotoxemia, carcinoma of the esophagus, preoperative immunotherapy, OK432

はじめに

食道癌手術の安全性は近年向上したとはいえ，依然として5％程度の手術死亡が報告されている[1)2)]．その死因を検討すると，肺合併症・縫合不全などの単独の原因による死亡は近年減少し，これらから2次的に生じた多臓器機能不全が最終的な死因となっている場合が多い[3)]．

このような食道癌術後の病態を解明する一環として，北村ら[4)]は食道癌術後の血中エンドトキシン（以下，Et）を測定し，術後にその増加を認めている．著者らは食道癌術後のEtを測定するとともに術前の免疫療法が術後のEt血症に与える影響を検討し，またこのEtと術後の検査成績との関係につき検討した．

対象と方法

1989年2月までの1年4か月間に当科でR_2郭清を伴う1期的食道切除再建術を施行した胸部食道癌17例を，術前に抗癌剤・免疫療法を用いなかった10例（対照群）とOK432を5KEずつ4～6回皮内投与した7例（免疫群）の2群に分けた．割り付けは1988年4月～10月の6か月間の全症例を免疫群として，この期間をはさむ前後合計8か月間の全症例を対照群とした．その内訳をみると，対照群の年齢は71.7±9.2歳，免疫群のそれは66.7±8.0歳であり，両群のあいだには癌の進行度・手術時間・出血量などにおいても有意な差は

Table 1 Profiles of the patients of control and immunotherapy groups. Patients of immunotherapy group were given 5KE. of OK432, 2 times a week for 2 to 3 weeks before the operation.

Items ＼ Groups		Controls (N=10)	Pre-op treatment with OK432 (N=7)
Age	(yrs)	71.7±9.2	66.7±8.0
Location of tumor			
Iu		2	2
Im		7	3
Ei		1	2
Stage of cancer			
I		0	1
II		1	1
III		5	4
IV		4	1
Op time	(min)	487±85	498±95
Op bleeding	(ml)	1214±800	806±369

＜1990年9月12日受理＞別刷請求先：米川　甫
〒359　所沢市並木3－2　防衛医科大学校第2外科

見られなかった（**Table 1**）.

両群とも通常の血液・生化学検査を行った．対照群の一部には術前にSU-polysaccharide（SUPS）に対する皮内反応を施行し，免疫群では全例にOK432投与前後にSUPS，purified protein derivative（PPD）の皮内反応も行った．

血中のEtは，術前・術直後・術後1・3・5・7・14病日に患者の大腿動脈から直接ヘパリン採血した血液につきトキシカラー法（エンドトキシンDテスト，生化学工業）により，記載された手順で[5]測定した．なお測定にはβ-glucanを除去されたディスポーザブルチップ（生化学工業）と，270度で2時間以上滅菌したガラス器具を用いた．

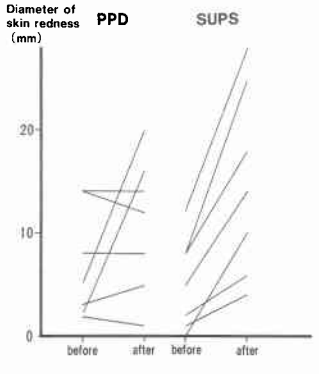
顆粒球エラスターゼはenzyme immunoassay（EIA法）で測定した[6]．術後の血液ガスについての検討は，吸入酸素濃度が日々ことなるので，respiratory index（RI）を対象として行った．統計的処理は1つの群内の経日的変動はpaired tテストで検定し，群間の比較はnon-paired tテストで行い，$p<0.05$のとき有意差ありとした．

結　果

1）皮内反応よりみた術前免疫状態

入院時のSUPS皮内反応の長径は，対照群では平均7.8±3.8mmであり（ただし5例のみ測定），免疫群では4.6±3.5mmで，両群に有意差は認められなかった．SUPSの皮内反応陽性とされる10mm以上の発赤は対照群・免疫群とも1例づつであった．

Fig. 1 Results of skin tests (immunotherapy group). Before immunotherapy, skin tests for PPD and SUPS were negative in most cases. After a series of injections of OK432, however, the diameter of skin redness for SUPS significantly increased.



免疫群ではOK432による免疫療法後のSUPSは15.6±9.4mmと免疫療法前より有意に増大した（$p<0.01$）（**Fig. 1**）．しかしPPDの長径は入院時に平均6.9±4.9mmであり，免疫療法後は11.0±6.3mmで，前後に有意差はなく，OK432は非特異的免疫を増強するものでなかった．

2）対照群・免疫群の血中Etの経過

（a）対照群の血中Etの経過

術前に免疫療法を行わなかった10例の術前Et値は13.9±9.8pg/mlであった．Etは術直後から24.9±13.8pg/mlへと有意な増加（$p<0.05$）をしめし，第1病日に最高37.0±19.9pg/mlとなった（$p<0.01$）（**Fig. 2**）．第3，5病日のEtはそれぞれ33.3±24.3，25.7±25.1pg/mlであった（$p<0.05$）．これらの有意な増加は5病日まで持続し，14病日には13.1±7.7pg/mlへと術前値まで復帰した．

Fig. 2 Changes in serum endotoxin (control group). Serum endotoxin levels significantly increased after esophagectomy (from 0 to 5 days; $p<0.05$).

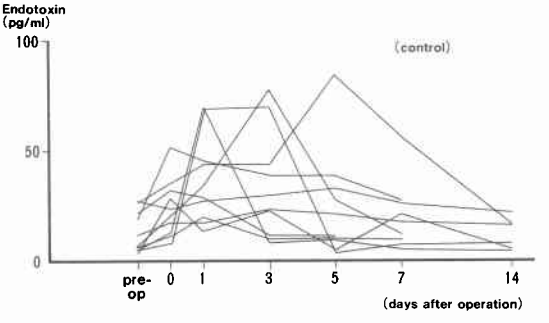
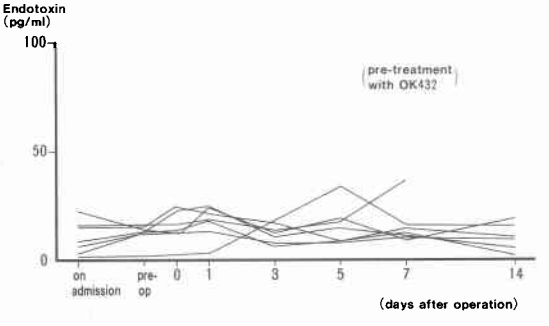


Fig. 3 Changes in serum endotoxin (immunotherapy group). Serum endotoxin levels did not increase after esophagectomy in patients who received preoperative immunotherapy with OK432.



b）免疫群の血中 Et の経過

免疫群の入院時の Et は10.9±7.8pg/ml であり，免疫療法終了後すなわち手術直前には12.3±4.6pg/ml であった．免疫療法前後の Et は有意な変化を示さなかった（**Fig. 3**）．

免疫群での Et の平均値は術直後14.7±7.5pg/ml であり，術前と有意な変化を示さなかった．また第1・3・5病日の Et は，それぞれ17.2±7.5，11.0±4.0，15.7±9.4pg/ml であり，いずれも術前値に比べて有意な変化でなかった．すなわち免疫群の Et は術前後の全期間を通じて明らかな変動がなかった．

c）対照群と免疫群の血中 Et の経過の比較

対照群10例と免疫群7例の Et の変化を手術直前から14病日まで比較すると，術前値は両群で差がなかったが，術直後（0病日）は免疫群で低値である傾向（$p<0.1$）がみられた（**Fig. 4**）．そして，術後1・3病日では免疫群の Et は対照群に比べて有意に低かった（$p<0.05$）．5病日以後の Et は両群間で有意な差は認められず，14病日にはともに術前値に回復した．

3）免疫群と対照群の臨床成績の比較

（a）末梢血検査成績

白血球数の変化は両群とも同一群のなかにおいてもその方向は一定でなかった．すなわち術直後をみると，対照群では10例中5例で，免疫群では7例中2例で術前値より減少し，他の症例では増加していた．平均値をみると白血球数は術前後のどの時点においても2群間で有意差をしめさなかった．

術前の血小板は対照群で25.5±6.6×10⁴，免疫群25.1±10.1×10⁴で有意な差はなかったが1病日ではそれぞれ10.7±4.5×10⁴，14.9±5.6×10⁴，第3病日ではそれぞれ11.3±8.5×10⁴，20.1±8.9×10⁴であり，ともに免疫群で多い傾向（$p<0.1$）が認められた（**Fig. 5**）．その後，両群の血小板は術後5病日にはほぼ同数となり，7病日には術前値に回復した．

（b）血液生化学検査成績

顆粒球エラスターゼは手術直後には対照群176.1±97.0，免疫群196±91.8であり，両群とも術後1，3病

Fig. 4 Comparison of serum endotoxin levels between control and immunotherapy groups. Serum endotoxin levels were significantly lower in immunotherapy group on the 1 st and 3 rd postoperative day than the control group ($p<0.05$).

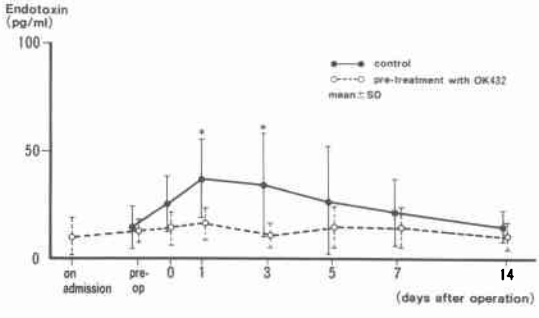


Fig. 5 Platelet

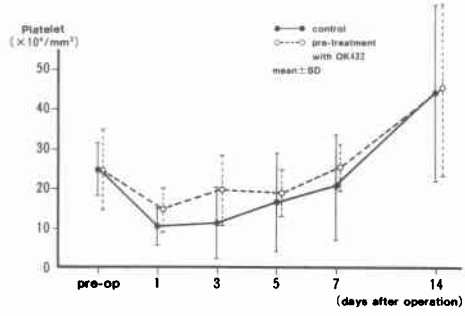


Fig. 6 Granulocyte elastase

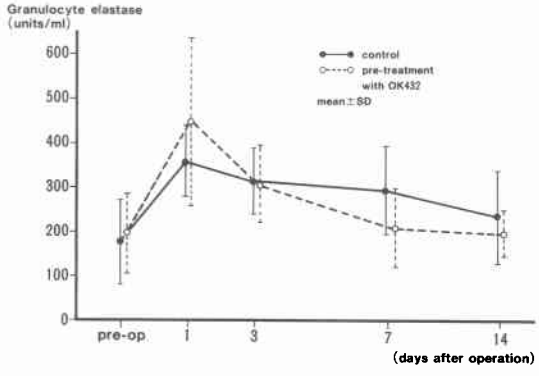
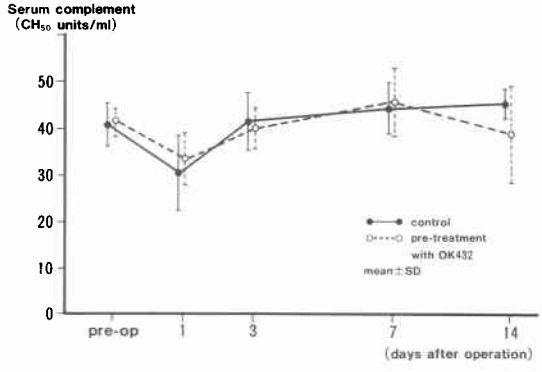


Fig. 7 Total serum complement (CH_{50})



日には術前の2倍前後に有意に増加したあと14病日にはほぼ術前値に復帰した(**Fig. 6**). しかし免疫療法はこの経過に影響を与えなかった.

血清総補体価(CH_{50})は, 術前には対照群40.9±4.6, 免疫群41.2±2.8であり, 術後1病日にはともに術前より有意に低下したあと, 3病日には術前値に回復した(**Fig. 7**). 両群の経過は全期間を通じて有意差が認められなかった.

炎症反応にともない増加する血清CRPは両群とも術後第3病日に最高となったが, 対照群・免疫群の間に差は見られなかった.

肝機能のうち総ビリルビン(T-bil), 腎機能のうちBUNは, ともに両群において術直後から徐々に増加し, 7病日に最高値となる傾向であった. しかしその変動はともに両群間に差が認められなかった.

(c) Respiratory indexの比較

術前後の血液ガスは投与酸素濃度の違いをこえて検討するためにrespiratory index (RI) を指標とした. 両群とも術前のRIは0.12ないし0.2の正常範囲にあったが, 術直後にはともに0.94～0.96と有意に($p<0.01$)増加し, 5病日までRIが約1.0の状態が持続し, 14病日でもなお0.4～0.5であった(**Fig. 8**). しかし対照群, 免疫群との間には有意差は認められなかった.

(d) 合併症発生との関係

今回の検討で対象とした両群の17例中には術死は見られなかった. Etを経日的に測定した14病日までに生じた合併症は対照群では呼吸不全1例・縫合不全1例で, 免疫群では呼吸不全2例であった. これら両群の各2症例の1～14病日までの血中Etの最高値は対照群ではそれぞれ69.0, 84.5pg/ml, 免疫群ではそれぞれ24.9, 23.8pg/mlであり, 免疫群で低値であった.

Fig. 8 Respiratory index (RI.) ($A\text{-}aDo_2/Pao_2$)

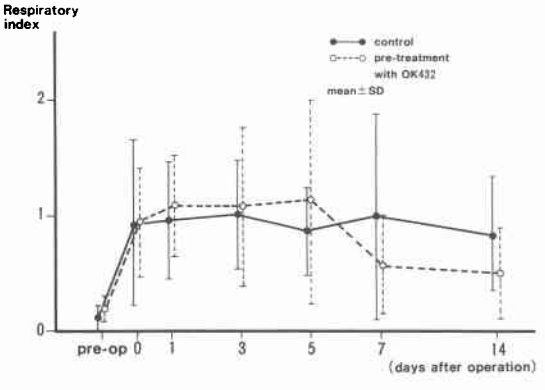


Fig. 9 Correlation between serum endotoxin levels and platelet counts on the first day after esophagectomy

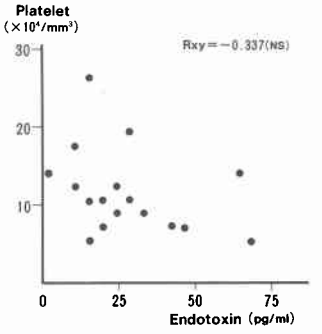
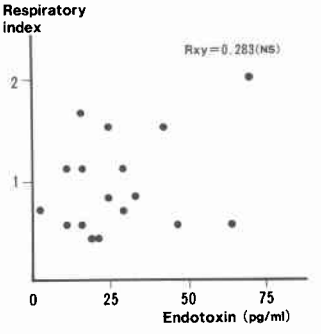


Fig. 10 Correlation between serum endotoxin levels and respiratory index on the first day after esophagectomy



4) 血中Etと臨床検査成績の相関

血中Etは対照群で術後1病日にもっとも増加したので, この時点での血中Et値が臨床検査成績と相関するか否かを検討した.

血小板数のみが術後早期に対照群と免疫群で差がある傾向であったので, まず血中Etと血小板数との関係を対照群・免疫群をひとまとめにして検討したが, 両群に有意な関係は認められなかった($0.2>p>0.1$)(**Fig. 9**).

また術後1病日のEtとRIとの間にも有意な関係はみられなかった(**Fig. 10**).

考　察

食道癌, 肝胆道系癌など消化器外科の術後には血中Etが増加することが報告されている[4)7)8)]. 北村ら[4)]は食道癌22例を対象として手術前後の血中Etを測定し, 食道癌では開腹手術例よりも術後の血中Etが高値をとること, そしてこのEt血症は血液培養陰性例

でも見られたことを報告している．

今回，著者らは術前に免疫療法を行わなかった10例につき術前後のEtを経日的に測定したところ，食道癌患者の術前のEtは正常値[5]をわずかに越える所にあり，術直後から第1病日にかけ急上昇し，その後3日ないし5病日にかけ回復した．この変動は第3病日のEtがなお高値であることを除けば北村ら[4]の報告に一致するものであった．

一方，OK432により術前に4～6回の免疫療法を施行した7例では術前のEtは対照群とほぼ同じであったが，術後の増加は抑制され術前後で有意な変動を示さなかった．

Nakagawaら[9]は主要な網内系の1つであるKupffer細胞を切除する肝切除例において，OK432による術前免疫療法が抑制された網内系の賦活を通じて術後48時間までの早期の高Et血症を予防することを報告しているが，食道癌でも同様の結果がえられた．

そこで対照群の一部と免疫療法群の合計12例の入院時の免疫状態を検討したところ，SUPSは10例（83.3%）が陰性であった．また免疫群ではPPDの皮内反応を行った7例中の5例は陰性であり，食道癌では術前の免疫の低下が見られた．著者らは網内系の機能を直接には測定しなかったが，今回の検討ではOK432が投与された免疫群全例においてSUPSの皮内反応が増加しており，食道癌でも免疫賦活に伴い同様の機序が働いた可能性があると思われる．

次に，術後の高Et血症の発生に関与する因子につき考察した．著者らの検討では患者の年齢・手術時間・出血量などは術後の血中Etとの相関を認めなかった．

玉熊ら[10]は高Et血症の生ずる原因を，(1) 多量のEtがたまたま血中に入る場合，(2) 重篤な感染症に伴う場合，(3) 腸管粘膜関門が破綻した場合，(4) 網内系の機能障害に伴う場合の4つに分類している．しかし今回の症例中に術後1～5病日の血液培養が陽性になった症例はなく，また術後の喀痰培養でグラム陰性桿菌が検出された症例のEtが特に高い傾向も認められなかったことから(1)，(2)は否定的である．(3)については術前から長期にわたり経口摂取が不十分な患者では腸管粘膜の萎縮があるとされ，腸管内のEtが容易に血中に移行（translocate）する可能性も考えられるので[11]，術前の食事内容と術前術後のEtとの関係も検討したが両者には有意な関係はなく，この点も否定的であった．よって本検査法で検出された高Et血症の原因としては要因(4)の関与も考えられ，この点からも著者らの成績は矛盾しないと思われた．

つぎに術前の免疫療法が術後の臨床経過に与える影響につき検討した．著者らの調べた範囲では術後の白血球数，血小板数，顆粒球エラスターゼ，補体価，CRP，T-bil，RIなどの検査成績の経過，さらには小数例ではあるが臨床的な合併症の発生率はいずれも対照群・免疫群のあいだで有意な差異は見られなかった．また第1病日の血中Etと主要な臨床検査成績との間にも有意な相関は見られなかった．

これらの成績はEtの臨床的意義についての多くの研究成果[8)~10)~14)]と矛盾すると思われた．これを説明するには，(1) 本研究の患者の術後Etの増加の程度は臨床経過に影響するほど大きくなかった，(2) 現在のトキシカラー法によるEtの測定法には問題がある，の2つの可能性が考えられる．

(1)のEtの増加の程度についてであるが，対象17例の術後Etは大部分の測定点において50pg/ml以下であり，118回の測定点において6回（4例）のみでそれを越えた．この4例はすべて対照群に含まれていたが，術後の血中Etが100pg/mlを越える症例は見られなかった．トキシカラー法とリムルステストを比較した報告によれば[15)16)]リムルス陽性となるのは45～50pg/mlとされる．すなわち食道癌患者では術後のEtは大部分の症例で，かつほとんどの測定時点においてリムルス陰性の範囲にあり，対照群のうち一部がリムルス弱陽性にすぎなかった．これは動物を使用して血中Et濃度と血行動態との関係を検討したNaessら[17]の報告や多臓器機能不全患者の血中Et[18]よりはるかに少い量である．Etには血中に多くの阻害物質が存在すること[15]をも考え合わせると，血中Etはあるレベルまでは臨床経過に影響しないとの見方も可能であろう．

つぎに著者らが使用したトキシカラー法[19]は鋭敏なEt測定法とされるが，本法はいわゆるファクターGを介してβ-glucanなどのEt以外の物質とも反応することが知られている[20]．β-glucanは自然界には高等生物の体成分としては存在せず，おもに真菌の多糖類として存在しているが[20]，とくに合併症なく経過した症例が手術当日から真菌に汚染されているとは考えがたい．北村ら[21]は食道癌術後にトキシカラー法では高Et血症が認められるものの，グラム陰性桿菌毒素により特異性が高いといわれるエンドスペシー法ではEtの増加が検出できないと報告し，このEtの本態として手術侵襲により産生される生体の反応物を考え，これ

をnonseptic endotoxemiaと称した．また菊地ら[22]は血管のホモジネートがトキシカラー法でEtと紛らわしい反応をしめすことを明らかにしている．したがって今回トキシカラー法で測定したものは真のエンドトキシンでない可能性も否定はできない．また石山ら[15]は現在のトキシカラー法には血清の前処理法，Etの回収率などにつきなお多くの問題点が残っていると報告している．

以上に示したように，食道癌術後には血中Etの増加が認められ，OK432による術前免疫療法はその増加を有意に抑制した．しかし，リムルス弱陽性以下に相当する濃度の血中Etの臨床的意義についてはなお明らかにできなかった．その臨床的意義を解明するためにはEtに特異性がより高く，より高感度な測定法の開発をふくめ，今後ともさらに研究が必要と思われた．

文　献

1) 掛川暉夫：食道癌治療のあゆみとともに．日消外会誌　23：685—694，1990
2) 磯野可一，奥山和明：胸部食道癌に対する3領域リンパ節郭清の評価．消外　12：163—170，1989
3) 掛川暉夫，山名秀明，藤田博正：MOFと呼吸不全，特に食道癌術後における．外科治療　58：55—60，1988
4) 北村道彦，西平哲郎，平山　克ほか：食道癌術後のエンドトキシン血症．日消外会誌　20：1648—1653，1987
5) 大林民典，田村弘志，田中重則ほか：血中エンドトキシン測定のための新しい血液前処理法（過塩素酸法）とその臨床的応用．臨病理　31：285—288，1983
6) 櫻林郁之介，飯村康夫，石井周一ほか：新しい顆粒球エラスターゼ測定法に関する基礎的検討．臨検　28：725—728，1984
7) 望月英隆，吉村一克，大崎裕子ほか：手術とエンドトキシン血症．Prog Med 7：1105—1110，1987
8) 江端俊彰，戸塚守夫，伝野隆一ほか：消化器外科手術によるエンドトキシン血症と多臓器機能不全．日消外会誌　19：694—697，1986
9) Nakagawa K, Ouchi K, Matubara S et al: The significance of activation of reticuloendothelial function on hepatectomy. Tohoku J Exp Med 153：123—132，1987
10) 玉熊正悦：第40回総会パネルディスカッション，ショックの対策．2．細菌性ショックを中心に．日臨外医会誌　40：220—223，1979
11) Alverdy JC, Aoys E, Moss GS: Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. Surgery 104：185—190，1988
12) Fry DE: Multiple system organ failure, Surg Clin North Am 68：107—122，1988
13) 西川浩平：エンドトキシンショックのメディエータ．代謝　26：453—463，1989
14) 早坂　滉：細菌性ショックとエンドトキシン血症．外科　44：1160—1168，1982
15) 石山　賢，渡邉千之，市倉　隆：リムルステスト（エンドトキシン検出法）—その後の展開．救急医　10：1239—1246，1986
16) 矢島義昭，福田一郎，大槻昌夫ほか：リムルスゲル化法（LGT）と合成基質法（LCT）の比較．織田敏次，山本祐夫 監修．エンドトキシン研究会記録．羊土社，東京，1985，p51—56
17) Naess F, Loise O, Pilligram LJ et al: Hemodynamic and proteolytic response in relation to plasma endotoxin concentrations in porcine endotoxemia. Prog Clin Biol Res 308：389—393，1989
18) 坪　敏仁，谷岡富美男，石原弘規ほか：多臓器機能不全患者の血漿エンドトキシン濃度と血漿ホルモン濃度．救急医　12：1131—1134，1988
19) 大林民典，田村弘志，田中重則ほか：エンドトキシンに特異的な新しい比色定量法の開発．臨病理　33：639—644，1985
20) 丹羽　充：リムルステスト最近の進歩．織田敏次，本間　損，玉熊正悦 編．エンドトキシン研究の新しい展開．羊土社，東京，1986，p23—33
21) 北村道彦，西平哲郎，森　昌造ほか：食道癌術後のエンドトキシン血症．日外会誌　90：626，1989
22) 菊地　充，渡辺正敏，佐々木章ほか：ラット臓器，特に血管ホモジェネートのカブトガニ血液凝固G因子活性化能—トキシカラーテストによる術後一過性エンドトキシン血症の原因について．日外会誌　90：2052，1989

A Clinical Study on Endotoxemia after Operation for Carcinoma of the Esophagus with Special Reference to the Effect of Preoperative Immunotherapy

Hajime Yonekawa, Shingo Shima, Masayuki Gotoh, Yoshihisa Morisaki, Yutaka Yoshizumi, Yoshiaki Sugiura and Susumu Tanaka
Department of Surgery II, National Defense Medical College

Serum endotoxin in 17 patients who underwent resection of carcinoma of of the esophagus was measured before the operation, and just after, and 1, 3, 5, 7 and 14 days after the operation. The patients were divided into two groups; ten patients were controls, and the remaining seven patients received an immunomodulator, OK432 (5KE) 4 to 6 times before surgery (immunotherapy group). The serum endotoxin level of the control patients before surgery was 13.9 ± 9.8 pg/ml, which was significantly increased after the operation with a peak of 37.0 ± 19.9 pg/ml on the 1st postoperative day. This significant endotoxemia continued for 5 days, then the endotoxin level returned to the baseline by 14 days after the operation. In the immunotherapy group, serum endotoxin did not show any significant increase after surgery; therefore, serum endotoxin in this group was significantly lower on the 1st and 3rd days after surgery than that in the control group. There were no significant differences in platelet counts, total serum complement (CH50), granulocyte elastase, or respiratory index between these two groups after surgery. This discrepancy between endotoxin levels and clinical course may result from either relatively small changes in endotoxin levels after esophagectomy or the lack of specificity of the toxicolor test.

Reprint requests: Hajime Yonekawa Department of Surgery II, National Defense Medical College
3-2 Namiki, Tokorozawa-shi, 359 JAPAN