日消外会誌 26（1）：68～75，1993年

腸管内エンドトキシンの血中への侵入経路としてのリンパ系について
―イヌ，腸管結紮ループ法を用いた実験的検討―

岩手医科大学医学部第1外科
菊地　充，渡辺正敏

特異的なエンドトキシン（Et）測定法であるエンドスペシー法を用いて，腸管からの内因性エンドトキシンの侵入経路としてのリンパ系経路の意味を検討した．
イヌを対照（A群，n=5），大腸閉塞腸管作成（B群，n=7），小腸閉塞腸管作成（C群，n=17）の3群に分けた．C群では，閉塞腸管を空腸と回腸の2か所に作成し，腸管内に *E. coli* または *S. abortus equi* の Lipopolysaccharide（LPS）を注入した．各群とも末梢血，門脈血の採血，および閉塞腸管の支配領域の末梢リンパ管からの採液を経時的に行い，Etを測定した．A群のEt値は末梢血，門脈血間では差はみられず，リンパ液中のEtも低値であった．B群は大腸リンパ液中Etが閉塞前35.7pg/mlから閉塞後274.3pg/mlと有意の上昇を示した．C群のLPS注入後では空腸155.3pg/ml，回腸96.7pg/mlで，注入前に比べ上昇を示した．以上より，内因性のEtの侵入経路としてはリンパ系が重要な役割を果たしていると考えられる．

I．はじめに

エンドトキシン（Et）は，グラム陰性菌細胞壁に存在し，その化学構造はリポ多糖（lipopolysaccharide；LPS）である．Etは種々の生体反応を引き起こし，ヒトの病態とも関わっている[1]．大腸では腸管内細菌群が常在していることから，Etが大量に存在していると言える．Etの一部は腸管粘膜から吸収され，門脈へ出現するが，肝網内系で貪食，除去され，末梢血には現れないとする考え方が一般的である．しかし，重症肝障害や腸管壁の防御機構が障害された場合[2]には，貪食機能の低下や，異常量の腸管からの吸収によりEt血症になるとされ，この概念を内因性Et血症と呼んでいる．

この説は，Trigerら[3]が多くの症例の門脈血および末梢血中のEt値についてリムルス試験[4]を用いて比較した結果，末梢血Etは陰性であったにもかかわらず，門脈血では陽性を示したという報告に基づいている．その後の報告にもいわゆる門脈血Et血症（portal endo toxemia）を裏付ける報告[5)6]が相次いでいる．

リムルス試験の原法はゲル化法であり，定量に関しては不十分であったが，その後発色合成基質法（トキシカラー法[7]，以下TOX，生化学工業）が登場し定量法として用いられるようになった．さらにリムルス試験は真菌々体成分であるβ-D-グルカンでも陽性になることが明らかにされ[8]，β-D-グルカンに反応する別の経路（G因子系）が発見された[9]．そして，Etを特異的に測定し得るエンドスペシー法[10]（以下ES，生化学工業）が開発されるに至っている．

われわれは，G因子を活性化する未知の物質が，消化器術後の血中に出現[11]することを見いだしており，さらに羊水，臍帯血中[12]や，肝疾患でもβ-D-グルカン様物質が血中に出現するとの報告もある[13]．つまり，従来のリムルス試験ではEt以外にβ-D-グルカンや未知の物質でも陽性になることがわかってきた．

またどのようなリムルス試験でも血漿前処理が必要であるが，われわれは本邦で広く用いられている過塩素酸（PCA）法を改良したNew PCA法[14)~16]を開発した．このように，これまでの測定法を用いて得られてきたEtと病態との関係についての成績やそれに基づいて構築されてきた概念については再検討の必要が生じてきた．

最近われわれはNew PCA法で前処理し，ESを用いて，肝硬変症例の周術期における内因性Et血症について検討したところ，末梢血および門脈血の間でEt値に差がなくいずれも低値であることが明らかになった（未発表データ）．この結果は内因性Et血症の存在や，腸管内Etの吸収が門脈を介するとするこれまでの考えに疑問を抱かせるものであり，われわれはEtの吸収経路として，門脈よりリンパ系の可能性を想定

<1992年9月9日受理>別刷請求先：菊地　充
〒020　盛岡市内丸19－1　岩手医科大学第1外科

した．そこでこの研究では，イヌの閉塞腸管術による腸閉塞モデルを用いて，1）内因性Et血症を作成すること，2）その際の吸収経路が門脈を介するかまたはリンパ系を介するのかを新しいEt測定法を用いて検討することにした．

II．材料と方法

1．リポポリサッカライド（LPS）：菌種による相違を検討する目的で*E. coli*0111：B4と*Salmonella abortus equi*由来（いずれもフェノール—水抽出，Difco社）のLPSを使用した．以下それぞれEC-LPS，SA-LPSと略記した．なお，注入したLPS以外はEtとした．

2．実験群の設定

10～15kgの雑種成犬29頭を使用した．これらを開腹のみの対照群（A群，5頭），大腸閉塞腸管作成群（B群，7頭），小腸の2か所に閉塞腸管を作成した後，EC-LPSを注入した群（C群，7頭），小腸の2か所に閉塞腸管を作成後，SA-LPSを注入した群（D群，3頭），C群の操作に加えて，腹水と腸静脈血の採取を行った群（E群，7頭）の5群に分けた（**Fig. 1**）．

3．閉塞腸管作成とLPSの注入

Pentobarbital sodium 25～30mg/kgで静脈麻酔し，気管内挿管後に空気呼吸にて強制換気を施した．正中切開にて開腹した．B群では，横行結腸中央部で腸管の長軸と直角方向にKocher鉗子を2か所にかけ遮断し，長さ10cmの大腸閉塞腸管を作成した．その際，腸間膜の血管，リンパ管を可及的に損傷しないように努めた．C, D, E群ではTreitz靱帯より30～40cm（空腸領域）と，170～180cm（回腸領域）の小腸の2か所をB群と同様の操作で遮断し，長さ10cmの小腸閉塞腸管を作成した．閉塞腸管壁に小孔を開け2本の動脈圧測定用チューブを刺入し，密閉した．1本は圧トランスジューサーとポリグラフに接続し，パイロジェンフリーの生理食塩水（大塚製薬）を適量注入し，腸管内圧を30～40mmHgに維持し腸閉塞の状況に近づけた．ほかの1本は，LPS注入用とした．構造の異なる2種類のLPSを用いた．すなわちC群では閉塞腸管作成60分後にEC-LPSを，D群ではSA-LPSをいずれも1mgを1mlに溶解し閉塞腸管内に注入した．またE群では閉塞腸管作成30分後に，C群と同様にEC-LPSを注入した（**Fig. 2**）．

Fig. 1　Time sequence of an experimental procedure of collections of blood, lymph and ascites. ▽: Ileus model formation. (In group A, only laparotomy was performed.) ▲: Perfusion of Et.

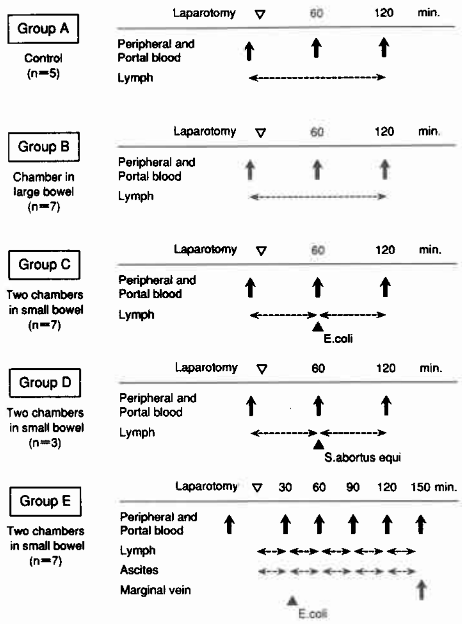
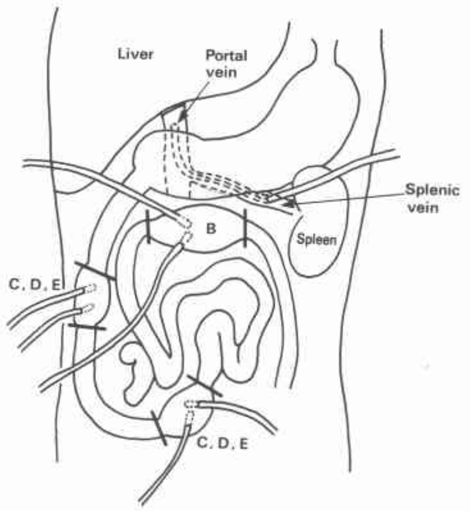


Fig. 2　Schematic illustration of ileus models. Portal vein was cathetereized with a polyethylene catheter for blood sampling. Ileus models were made by formation of large (group B) or small (group C, D, E, two regions) intestinal chamber of 10cm length with two clamps. Two tubes were inserted into each chamber for measurement of intraluminal pressure and perfusion of LPS.



4. 末梢血，門脈血の採取

左頸部に約3cm の皮切を加え，外頸静脈より6Fr.多用途チューブを挿入，留置し，末梢血を採取した．また，脾静脈から多用途チューブを挿入し肝門部門脈へ留置し門脈血の採血用とした．この2か所から同時期に，ヘパリンを添加したパイロジェンフリーのディスポーザブルシリンジで3ml 採血した．採血の時点は A, B, C, D 群では開腹直後，閉塞腸管作成後60分，120分の3回，E 群では開腹直後と，閉塞腸管作成30分後から150分後まで30分間隔で計6回とした．採血後には Et フリーの生理食塩水3ml を注入し，チューブの閉塞あるいは LPS のチューブ内残存を防止した（**Fig. 1**）．

5. 領域リンパ管からのリンパ液の採取

作成した小腸あるいは結腸閉塞腸管の腸管近傍の腸間膜リンパ管内に24G サフロー針を刺入後留置しリンパ液を採取した．なお A 群は閉塞腸管作成の他群と同じ部位の腸間膜リンパ管内にサフロー針を留置した．A, B 群では閉塞腸管作成後から120分までを一括採取し，C, D 群は閉塞腸管作成後から60分までと，60分から120分までの2回に分け採取した．E 群では閉塞腸管作成後30分間と，Et 注入後から30分間隔で150分後まで5回分割採取した．また C, D 群では採取リンパ液量を計測した（**Fig. 1**）．

6. 腹水および腸静脈血の採取

E 群の7例中5例において，閉塞腸管作成後30, 60, 90, 120, 150分に小腸間膜中央部より腹水（腹腔内浸出液）を無菌的に約3ml 採取した．また150分後には，閉塞腸管領域から流出する腸静脈から3ml 採血した（**Fig. 1**）．

7. 検体処理

採取した末梢血，門脈血および腸静脈血は γ 線滅菌処理の試験管（Falcon 社製）に入れ，3,000r.p.m., 40秒遠心分離し，その上澄みすなわち多血小板血漿を検体とした．ガラス製の乾熱滅菌（250℃，2時間）したチューブに入れ，−80℃で凍結し測定まで保存した．リンパ液と腹水は採取後直ちに−80℃で凍結保存した．

8. Et の測定

ES を用いて測定した．この方法はカブトガニの血液成分から G 因子系を除去し，特異性を高めた合成基質法である[10]．前処理法として，New PCA 法[14)~16]を使用した．以下，Et の単位は pg/ml とした．

9. 添加回収実験（前処理法の検討）

New PCA 法はヒトに適応する前処理法として開発されたので，この方法がイヌの血液およびリンパ液にも用いうるかを検討した．血液，リンパ液，さらに対照としての生理食塩水をそれぞれ0.9ml 試験管にとり，これらに EC-LPS を最終濃度100pg/ml となるように0.1ml を添加した．これを37℃で加温し，0, 10, 30, 60分後に0.1ml ずつ採取し，New PCA 法処理した後にエンドスペシー法で測定し，その結果から添加した Et の回収率を求めた．

10. 統計処理

平均値と標準偏差値または標準誤差を求め，T-検定を行い，$p<0.05$を有意差ありとした．

III. 結　果

1）血漿とリンパ液における Et 添加回収の成績

EC-LPS（100pg/ml）を添加した後の回収率は，10分後では Et 添加時を100%として血漿で43%，リンパ液で46%，60分後ではそれぞれ45%，48%と血漿とリンパ液の間で回収率で差を認めず，ヒトでのこれまでの成績とほぼ同じであった[15)16)]（**Fig. 3**）．

2）末梢血と門脈血の Et 値

A 群即ち開腹のみの群では，末梢血の Et 値は開腹直後の約9pg/ml より60分後，120分後に約13pg/ml に増加した．門脈血でもほぼ同様の結果であり，両者間

Fig. 3 Et recovery rate from normal dog plasma and lymph. LPS (E. coli 0111 : B4) was spiked into normal dog plasma or lymph, and incubated at 37℃ for the indicated time, and Et activity of the sample was assayed Endospecy after the New PCA pretreatment.

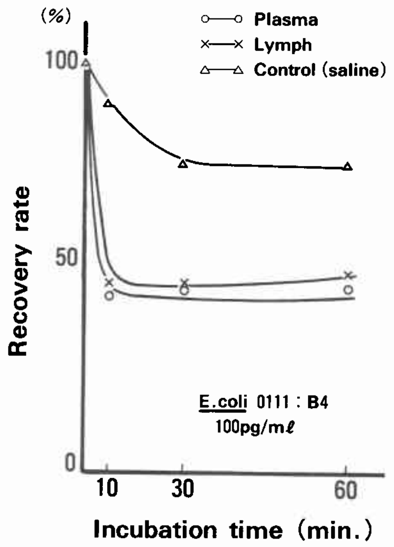


Table 1 Changes of Et values of peripheral and portal blood after ileus formation*

Time (min.) after ileus model formation	Group A⁺ (N=5)		Group B (N=7)		Group C (N=7)		Group D (N=3)	
	Peripheral	Portal	Peripheral	Portal	Peripheral	Portal	Peripheral	Portal
Before	9.1±3.2	9.8±1.8	11.3±6.5	10.2±6.6	9.3±4.6	8.5±5.1	9.6±0.7	8.3±1.7
60 min.	13.4±4.4	12.8±2.4	11.6±4.8	12.3±3.9	10.4±5.8	9.7±6.0	12.6±0.9	12.0±1.2
120 min.	13.3±3.2	13.6±2.5	9.1±4.0	12.3±3.9	9.7±4.8	9.2±4.8	8.9±0.5	9.1±0.8

Data shows mean±S.D. (pg/ml)

+ : In group A, ileus model was not formed.

* : Differences between study groups were not significant

Table 2 Et values of lymph in group A (control) and group B

Group	Small intestine	Large intestine
A	21.9±14.3	35.7±40.7
B	39.8±48.8	274.3±155.3*

Data shows mean±S.D. (pg/ml)

* : p<0.01, compared with large intestine of group A

Table 3 Changes of Et values of lymph before and after perfusion of LPS

Group	Jejunum		Ileum	
	Before	After	Before	After
C	35.8±13.1	155.3±111.5*	31.1±18.4	96.7±87.5
D	28.2±7.9	172.7±79.1	42.7±0.7	141.5±84.8

Data shows mean±S.D. (pg/ml)

* : p<0.05, compared with values of jejunum before perfusion of LPS in group C

にほとんど差はなかった。

B群においては，開腹直後の末梢血，門脈血Et値はともに10～11pg/mlと差がなかったが，A群に比べてやや高値であった．時間経過では門脈血は末梢血よりやや高値を示したが有意の差はなかった．

C群の末梢血と門脈血のEt値は開腹直後から120分後までともにほぼ同レベルであった．D群の末梢血と門脈血Et値は開腹直後，120分後でも同等であった．しかし，60分後ではいずれも若干の上昇がみられたのみであった．(**Table 1**)．

3) 小腸および大腸リンパ液のEt値

大腸閉塞群(B群)の小腸リンパ液中Et値は対照群A群に対して有意差はないがわずかに高値を示した．一方，大腸リンパ液中EtはB群ではA群に比べ有意(p<0.01)に高値を示した．このB群の値は両群の小腸リンパ液と比較しても有意差を認めた(p<0.05)(**Table 2**)．

次に小腸閉塞C, D群の閉塞腸管内Et注入前後のリンパ液中Etを比較した．C群，D群いずれでもLPS投与前の小腸リンパ液中Et値は，空腸領域，回腸領域の間に差はなかった．ところが，LPSを小腸内に注入した60分後にはC群(EC-LPS注入)の空腸，回腸ともに投与前に比較して上昇がみられ，特に空腸リンパ液中Etは有意な差がみられた(p<0.05)．D群(SA-LPS注入)でも同様に投与後は投与前と比較して高値を示した．また，いずれの群においても空腸リンパ液のEt値が回腸のEt値よりも高値を示した．

なお，リンパ流量は，C, D群とも，LPS投与前後で小腸の空腸と回腸いずれでも0.4～0.5ml/hrとほぼ一定の値であった(**Table 3**)．

4) E群でのリンパ液および腹水中Et値の経時的変動

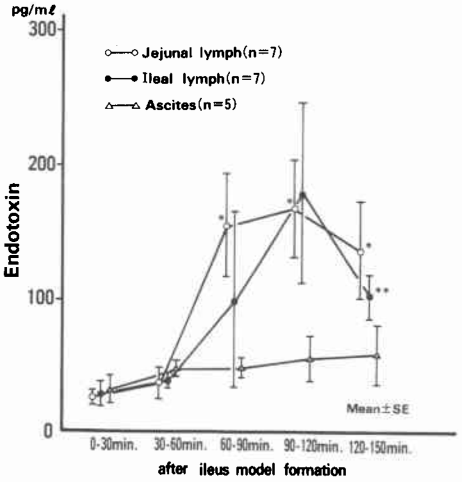
閉塞腸管作成後30分までの空腸および回腸リンパ液中Et値はそれぞれ25.8±3.1, 29.4±8.6で，60分後(LPS注入後30分)でも同様の結果であった(**Fig. 4**)．しかし，LPS注入60分後，すなわち閉塞腸管作成後90分には空腸，回腸リンパ液Et値はそれぞれ154.5±33.7, 98.9±66.0と増加し，空腸値が優っていた．120分後，150分後では空腸，回腸ともに高値を持続した．小腸リンパ液と同時期に採取した腹水のEt値は，閉塞腸管作成30分後では32.7±9.7で，その後徐々に増加を示し，LPS注入120分後までやや増加の傾向がみられた．また閉塞腸管作成150分後の閉塞腸管より流出する腸静脈血のEt値は，空腸で20.4±5.5，回腸では26.8±4.1にとどまった．なお，同時期に末梢血，門脈血のEtも検討したが，C, D群(**Table 1**)と同様に両者に差はなく，有意の増加もなかった．

IV. 考　察

この研究では，新しい血漿前処理法とEt特異的測定法を用いて，内因性Et血症の検証と，Etの吸収経路について，イヌの腸閉塞モデルで検討した．

初めに，ヒトの血漿前処理法として開発されたNew

Fig. 4　Changes of Et values of lymph and ascites in group E.
＊Shows p<0.05 as compared with values of jejunal lymph collected during first 30min. after ileus model formation. ＊＊Shows p<0.05 as compared with values of ileal lymph collected during first 30min. after ileus model formation.



PCA法がイヌの血漿やリンパ液に適応できるかを検討した．従来のPCA法は血漿にPCAを加えて加温後，変性蛋白の沈殿を遠心除去し，その上澄みをESでの測定に供する．これに対してNew PCA法は，PCAの沈殿を再溶解して測定しうるように改良したものである．われわれは変性蛋白の沈殿中にEt活性があることを確認しこの方法の理論的裏付を得ている[14)~16)]．PCA法では添加したEtの回収率が極めて悪いのに対してNew PCA法での回収率は60～80％である[15)16)]．ヒト血漿以外の検体でも回収率が高ければNew PCA法が適応できると考えられる．そこでイヌの血漿やリンパ液に既知量のLPSを添加し，37℃で加温してEtの回収率を検討したが，これまでに報告されたヒト血漿におけるEtの回収率[15)16)]とほぼ同じ結果を得，New PCA法が適応できることがわかった．

そこでイヌの腸管閉塞モデルを用いて，内因性Et血症と吸収経路について検討した．腸管閉塞時には一般にリンパ流量が増加する事実があるが，これはおそらく閉塞腸管内圧が上昇することと関連していると考え，このモデルでも閉塞腸管へ生理食塩水の注入を行い，内圧を高めた．

最初に腸管閉塞前後や，さらに閉塞腸管にLPSを負荷したときの門脈血と末梢血のEtについて検討した．その結果，開腹のみの群（A群）でも60分後の門脈血や末梢血のEt値は開腹時に比較してわずかに増加した．また，閉塞群（B，C，D群）においても同様に開腹時に比較して閉塞腸管作成後あるいはさらにLPS注入後もEt値はほとんど増加せず，さらに末梢血や門脈血との比較では各群ともにEt値に有意な差はなかった．この結果は，内因性Et血症の存在や，吸収経路としての門脈系の存在を否定するものであった．

一方，リンパ液中のEtについて各群でみたところ，大腸閉塞群（B群）では大腸リンパ液のEt濃度は極めて高値であった．また，小腸2か所閉塞後，LPS注入群(C，D群)で，注入後に領域リンパ管から高値のEtが検出された．また，E群ではEt注入後30分間隔のリンパ液中Et値の変動をみたところ，空腸，回腸いずれのリンパ管でも注入後60～90分間の30分間で有意に高値を示した．

以上のように，リンパ液中のEt値は，大腸閉塞群で有意に高値を示し，Etの吸収経路としての重要性が示唆された．この際大腸閉塞群ではLPSを注入しなくともリンパ液中のEtは高値であったが，Etは当然ながら常在菌叢由来であることを示している．

小腸では閉塞腸管作成のみでは空腸，回腸のいずれからもEtの吸収をみることが出来なかった．しかし，腸管内にEC-あるいはSA-LPSを注入することによりリンパ液中Etの有意の上昇を認め，しかも両菌種のLPSではほとんど差がなく吸収されることがわかった．Etの吸収能や吸収速度は回腸より空腸が優っていることが示唆された．

リンパ液は最終的に胸管に集まり静脈に入るが，この実験モデルでは末梢血まではEtの高値はえられず，Et血症のモデル作成は行えなかった．実際，B群の3頭について，実験終了後に胸管より30分間にわたって採液した結果，Et値は28.0±7.9と低値であった．その理由としてはC，D群の結果から明らかなようにリンパ液量は0.4～0.5ml/hrと極めて小量であることから，胸管に至るまでの間に他のリンパ液により希釈されていること，もしくはリンパ液中でEtが不活化ないし貪食細胞に補足されている可能性が考えられた．

腹腔内Etが血中に吸収されることを示す成績はこれまでに多く報告[17)~20)]されているが，最近この際の吸収経路がリンパ系であるとする報告が2，3でている．竹末ら[21)]は，腹腔内にEtを散布し，門脈および胸管，

右リンパ本幹リンパ液のEtを調べ，胸管，右リンパ本幹のEtが有意の高値で，しかもリンパ管ドレナージを行い，リンパ液を体外に除去した群の門脈血Etは有意に低値であったと報告している．また，Olofssonら[22]はリムルム法を用いたラット腹膜炎モデルによる実験で，胸管リンパ液のEtは門脈血Etと比較して400～500倍の高値であったと報告している．

このようにリンパ管へのEtの吸収経路として，1度腸壁から腹腔内に漏出し，その後にリンパ管に侵入する経路も考えられる．しかし，今回の検討では，E群において腹水中は，閉塞腸管作成120分後で約60pg/mlまでの上昇にとどまり，閉塞腸管内Etの腹腔漏出はリンパ管への流出に比べ小量であり，腹腔を経た吸収経路の可能性は少ないと思われた．

また腸管壁より流出する腸静脈血のEtは空腸，回腸共に末梢血より若干の高値にとどまり，この経路も否定的であった．

一方で血行性経路すなわち門脈系が吸収経路であることを否定する報告も最近多くなっった．これらの研究手段には2つある．その1つはEt特異的測定法である．われわれのこれまでのNew PCA法とESを用いた検討（未発表データ）でも，食道静脈瘤手術症例における術中末梢血と門脈血の差はなかった（手術開始2時間後；末梢血8.8，門脈血8.5，6時間後それぞれ7.9，7.7，平均，単位はpg/ml）．しかしこれをTOXで測定すると有意差はないものの常に門脈血中のEt値は高値であった（手術開始2時間後；末梢血17.7，門脈血28.9，6時間後それぞれ46.6，62.1）．この結果より，TOXによる測定は，Et以外の偽陽性物質を測定している可能性があり，したがってこれまでの門脈Et血症の報告も偽陽性反応が関与している可能性が考えられる．

いま1つは，血管閉塞モデルでの検討であり，家兎を用いた上腸間膜動脈閉塞モデルでの検討で，門脈血Et血症の存在なしにEt血症が認められたとする報告[23]や，門脈閉塞でもEt血症が起こることが指摘[24]されている．さらに最近，上腸間膜動脈閉塞によって胸管リンパ液のEtが増加したとする報告[25]もあり，吸収経路として門脈系よりはリンパ系を支持するものである．

Nolan[26]は，動物実験においてEtが腸管粘膜より腸管壁へ透過することを観察している．このことは，なんらかの腸管壁の形態的あるいは機能的変化によってEtは粘膜を通過することを示している．Dwyerら[27]は，Et血症では腸管の透過性が亢進していること示唆する報告をしている．そして，敗血症，外傷あるいは炎症性腸疾患などでは，侵襲による腸管の透過性亢進がおこり腸管由来のいわゆる内因性Et血症が発現すると述べている．

以上のように，腸閉塞モデルでは内因性Et血症を再現できなかったものの，Etが体内に吸収される経路として，血行性経路の役割は少なくリンパ系の重要性が示唆された．

稿を終えるにあたり御指導，御校閲を賜った岩手医科大学第1外科の斉藤和好教授および細菌学教室の吉田昌男教授に深甚なる謝意を表します．また，終始直接御指導を賜りました細菌学の稲田捷也講師に深謝すると共に，御援助戴いた第1外科および細菌学教室員の方々に深謝を表します．

文　献

1) 本間　遜：内毒素の生物活性，吉田昌男，稲田捷也，平田陸正ほか編，内毒素，医歯薬出版，東京，1989，p141—332
2) van Deventer SJH, ten Cate JW, Tytgat GNJ: Intestinal endotoxemia. Gastroenterology 94: 825—831, 1988
3) Triger DR, Boyer TD, Levin J: Portal and systemic bacteraemia and endotoxemia in liver disease. Gut 19: 935—939, 1978
4) Levin J, Bang FB: Clottable protein in Limulus: Its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. Thromb Diath Haemorrh 19: 186—197, 1968
5) Prirz H, Holst-Christensen J, Korner S: Portal venous and systemic endotoxaemia in patient without liver disease and systemic endotoxaemia in patient with cirrhosis. Scand J Gastroenterol 11: 857—863, 1976
6) Jacob AI, Goldberg PK, Bloom N et al: Endotoxin and Bacteria in portal blood. Gastroenterology 72: 1268—1270, 1977
7) Iwanaga S, Morita T, Harada T et al: Chromogenic substrates for horseshoe crab clotting enzyme. Haemostasis 7: 183—188, 1978
8) Kakinuma A, Asano T, Torii H et al: Gelation of Limulus amoebocyte lysate by an antitumor (1→3)-β-D-glucan. Biophys Res Communs 101: 434—439, 1981
9) Morita T, Tanaka S, Nakamura T et al: A new (1→3)-β-D-glucan-mediated coagulation pathway found in limurus amebocyte lysate. FEBS Lett 129: 318—321, 1981
10) Obayashi T, Tamura H, Tanaka S et al: A

new chromogenic endotoxin-specific assay using recombined limurus coagulation enzyme and its clinical applications. Clinica Chimica Acuta 149：55—65, 1985
11) 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
12) 須田秀利, 臼木　豊, 松田　勲：臍帯血中エンドトキシン定量の問題点. 日新生児会誌 25：829—833, 1989
13) Yajima M, Fukuda I, Otsuki K et al: Non-septic endotoxemia in cirrhotic patients. Gastroenterol Jpn 24：262—269, 1989
14) 吉田昌男, 高橋和彦, 平田陸正ほか：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―トキシカラーテストおよびエンドスペシーテストについての2,3の知見. 織田敏次 監. エンドトキシン研究の新しい展開. 羊土社, 東京, 1985, p35—44
15) 高橋和彦：発色合成基質を用いたヒト血中内毒素微量定量法に関する研究. 岩手医誌 40：67—80, 1988
16) Inada K, Endo S, Takahashi K et al: Establishment of a new perchloric acid treatment method to allow determination of the total endotoxin content in human plasma by the limulus test and clinical application. Microbiol Immunol 35：303—314, 1991
17) Bailey ME: Endotoxin, bile salts, and renal function in obstructive jaundice. Br J Surg 63：774—778, 1976
18) Palmer KR, Durden BI, Holdsworth CD: Bacteriological and endotoxin studies in case of ulcerative colitis submitted to surgery. Gut 21：851—854, 1980
19) Ravin HA, Rowley D, Jenkins C et al: On the absorption of bacterial endotoxin from the gastrointestinal tract of the normal and shocked animal. J Exp Med 112：783—792, 1960
20) Papa M, Halperin Z, Rubenstein E et al: The effect of ischemia of the dogs colon on transmural migration of bacteria and endotoxin. J Surg Res 35：264—269, 1983
21) 竹末芳生：腹膜炎におけるエンドトキシン血症発症に関する研究―特にエンドトキシン吸収についての検討―. 日外会誌 88：327—339, 1987
22) Olofsson P, Nylander G, Olsson P: Endotoxin: routes of transport in experimental peritonitis. Am J Surg 151：443—446, 1986
23) Cuevas P, Fine J: Role of intraintestinal endotoxin in death from peritonitis. Surg Gynecol Obstet 134：953—957, 1972
24) Olcay I, Kitaham A, Miller RH et al: Reticuloendothelial dysfunction and endotoxemia following portal vein occlusion. Surgery 75：64—70, 1974
25) Nozickova M, Bartos V, Sedlak J: Effect of transient intestinal ischemia on the thoracic duct lymph absorption of endotoxin. Lymphology 11：161—165, 1977
26) Nolan JP, Hare DK, McDevitt JJ et al: In vitro studies of intestinal endotoxin absorption. Kinetics of absorption in the isolated gut sac. Gastroenterology 72：434—439, 1977
27) Dwyer TO', Hamish R, Thomas R et al: A single dose of endotoxin increses intestinal permeability in healthy humans. Arch Surg 123：1459—1464, 1988

Lymphatic Vessels as an Entry Route of Enteric Bacterial Endotoxin into the Circulation —Experimental Study by Dog Intestinal Loop Method—

Mitsuru Kikuchi and Masatoshi Watanabe
The First Department of Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University

The route of entry of endogenous endotoxin (Et) from the gut was studied experimentally. Endospecy, the most specific Et-assay and a New PCA for pretreatment were used for quantitative assessment of Et. Ileus models, consisting of an obstructed chamber 10 cm in length, were made in both the small and large bowel in dogs. Experiments were divided into three groups: (A) controls without an obstructed chamber (n=5); (B) 7 dogs with two chambers in the large bowel; (C) 17 dogs with chambers in both the jejunum and the ileum. To collect blood and lymph in series, catheters were inserted into the peripheral vein, portal vein and regional lymph vessels of the obstructed bowels. Each chamber was maintained at an intraluminal pressure of 40 mmHg. Only in group C, Et of *Escherichia coli* (EC) or *Salmonella abortus equi* (SA) was perfused in the chambers. In the controls, there was no significant difference in the plasma Et levels between the peripheral (13.3 pg/ml) and portal (13.6 pg/ml) veins 120

min after the operation and the lymphatic Et of the large bowel presented a sustained low level. In group B, the levels of lymphatic Et in the large bowel after obstruction (274.3 pg/ml) was significantly higher than that of group A (35.7 pg/ml), although the plasma Et levels of the peripheral and portal veins showed no change. In group C, the lymphatic Et levels in the jejunum and the ileum were 155.3 pg/ml and 96.7 pg/ml respectively after EC perfusion, significantly higher than each value (35.8 and 31.1 pg/ml) before perfusion. This tendency was also seen in the case of SA perfusion. Et concentration in the ileal lymph was lower than that in the jujunal lymph. It is worth noticing that the peripheral and portal Et did not change in either group B or C. It is concluded that the lymphatic vessels are the pathway of endogenous Et which is absorbed from the mucosa of the bowel. If colon bacteria reflux in the small bowel, there is a possibility that Et is also absorbed through the lymphatic system.

Reprint requests: Mitsuru Kikuchi The First Department of Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, 020 JAPAN