

## 消化器外科周術期の真菌血症の検討

神戸大学医学部第1外科

土師 誠二 宇佐美 真 平井 昭博 阪田 和哉  
小谷 穰治 磯 篤典 金丸 太一 笠原 宏  
山本 正博 斎藤 洋一

大侵襲の消化器外科周術期の真菌血症の発生について検討した。対象は臓器真菌症を有さない胸部食道切除6例、胃全摘12例、膵切除4例で、術前、術後2、10日目に末梢静脈血を用いて細菌培養、カンジダ抗原価(Cand-Tec)、 $\beta$ -D-glucan値(トキシカラ値とエンドスペシー値の差)を測定し、真菌血症の診断を行った。カンジダ抗原価、 $\beta$ -D-glucan値陽性率は2PODにはともに42.8%と有意に上昇し( $p < 0.01$ )、カンジダ抗原価は10PODにさらに増加するのに対し、 $\beta$ -D-glucan値は減少し、一過性の上昇を示した。血液培養は全て陰性だった。術式別では食道切除術で陽性率が高かった。陽性群と陰性群で比較すると、カンジダ抗原価陽性群は手術侵襲が大きく、低栄養の症例が多かった。以上より、消化器外科手術後早期には培養陽性とはならぬが一過性の真菌血症が生じ、手術侵襲の程度や栄養状態と関連し、microbial translocationの可能性が強く示唆される。

**Key words:** perioperative fungemia, microbial translocation, gastrointestinal surgery, Cand-Tec,  $\beta$ -D-glucan

### はじめに

真菌血症は compromised host における感染症として重要な位置を占めており、真菌血症から播種病巣が生じ、全身性真菌症が発生するとその予後は不良である。消化器外科領域でも深在性真菌症の発生が報告されており、中心静脈カテーテル留置、total parenteral nutrition (以下 TPN) による長期の絶食、悪性腫瘍、高齢、広域抗生物質、抗癌剤の使用、放射線治療、ないし  $H_2$ -blocker 投与は深在性真菌症の risk factor とされている<sup>1)2)</sup>。消化器手術後の真菌血症、深在性真菌症の報告は散見されるようになってきているが<sup>3)4)</sup>、1.5~8.5人/10,000入院例という一般の周術期の発生頻度<sup>5)</sup>と比べると、上記の risk factor を複数有する消化器外科手術後の発生頻度は20~60%ときわめて高い<sup>4)</sup>。しかし、それらの報告は発症後の retrospective な解析であるため術後長期を経過しており、消化器外科手術後早期の prospective な解析の報告は見られない。また、我々も、retrospective な解析により経腸栄養併用例で真菌血症の頻度が減少することから、消化器外科手術後の深在性真菌症の発生に内因性感染経路

(microbial translocation) の可能性があることを報告している<sup>6)</sup>。そこで我々は、明らかな臓器真菌症を認めない消化器外科手術症例を用いて術前後に血液培養、血清学的診断法により真菌血症発症の実態を明らかにし、病態との関連および microbial translocation について prospective な検討を行った。なお、microbial translocation とは、bacterial translocation に加えて、細菌だけでなく、細菌の菌体成分および真菌や真菌の菌体成分が腸管内から translocate し、血中や臓器中で検出される現象をいう<sup>7)</sup>。

### 対象および方法

1993年1月18日から1994年4月25日までの間に当科で施行された、侵襲が大きく、かつ絶食期間が長い食道切除、胃全摘、膵切除例の内、経時的に測定しえた22例を対象とした。対象症例はいずれも中心静脈カテーテルが留置され、術後の栄養管理は中心静脈栄養のみ、または術後3日目より経腸栄養を併用して管理した。症例はいずれも術後10日目まで絶食とし、投与カロリーは術後4日目には full strength になるようにした。

真菌血症の診断は、菌学的検査として血液培養を施行するとともに、血清学的検査として血中カンジダ抗原価、 $\beta$ -D-glucan 値を測定することによって行った。

<1996年2月14日受理>別刷請求先: 土師 誠二  
〒650 神戸市中央区楠町7-5-2 神戸大学医学部第1外科

測定ポイントは術前、術後2日目、術後10日目とした。

血液培養は、BCB ボトル (BBL) および BACTEC-NR 16A・17A (BBL) を用い7日間までの培養を行った<sup>8)</sup>。カンジダ抗原価は、カンジダ菌体の細胞質成分に含まれ、熱や酵素に感受性の易熱性/プロテアーゼ変性糖蛋白抗原をラテックス凝集反応を利用した CAND-TED kit (Ramco Laboratory inc.) で測定し、+2以上を陽性とした<sup>9)</sup>。 $\beta$ -D-glucan 値は、トキシカラー値(合成基質法)リムステスト法：生化学工業)とエンドスペシー値(エンドトキシン特異テスト：生化学工業)の差として表し、10pg/ml 以上を陽性とした<sup>8)</sup>。また、炎症反応として白血球数、CRP、免疫系の指標として、末梢リンパ球数、肝障害の指標として T-Bil, GOT, GPT, 栄養指標として BUN, TP, ALB, FFA, T-chol, transferrin (Tf), prealbumin (PA), retinol binding protein (RBP) を測定し、手術侵襲として術中出血量、手術時間、また、年齢と比較検討した。

#### 統計学的検討

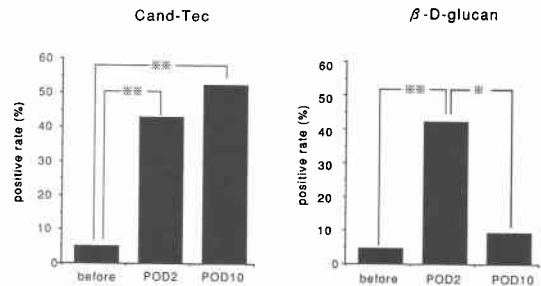
測定値は平均値 (mean)  $\pm$  標準偏差 (S.D.) で表した。統計学的検定は  $\chi^2$  検定, Fisher の直接確率計算法または Student-t 検定で行い、危険率  $p$  が 0.05 未満を有意差ありとした。

#### 結果

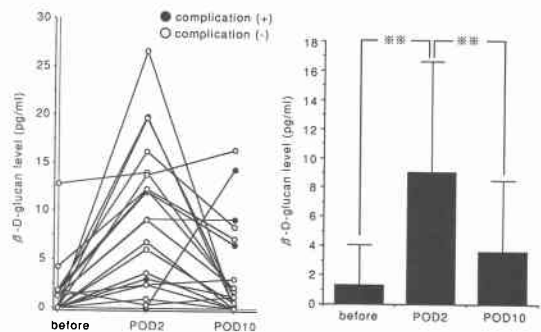
症例の内訳は食道切除例は 6 例、膵切除例 4 例、胃全摘 12 例であった。疾患は食道癌 6 例、膵頭部癌 2 例、十二指腸癌 1 例、慢性膵炎 1 例、胃癌 12 例であった。食道癌 6 例では右開胸開腹による胸部食道全摘と胃管による再建が 4 例、非開胸食道抜去が 1 例、左開胸下部食道切除が 1 例に行われ、胃全摘 12 例では、リンパ節郭清のため膵体尾部脾合併切除が 7 例に行われた。膵切除は膵全摘門脈合併切除が 1 例、膵頭十二指腸切除が 3 例に行われた。平均年齢は  $64.4 \pm 8.7$  歳で、男女比は男性 19 例、女性 3 例であった。平均術中出血量は  $1,063.5 \pm 884.4$  ml, 平均手術時間は  $438.8 \pm 123.0$  min であった。術式別の出血量は、食道切除  $721 \pm 266.6$  ml, 膵切除  $1,451.7 \pm 891.7$  ml, 胃全摘  $1,137.8 \pm 1,064.9$  ml で差を認めなかった。また、手術時間は食道切除  $540 \pm 129$  min, 膵切除  $491.7 \pm 67.1$  min, 胃全摘  $375 \pm 91.3$  min で、食道切除と胃全摘の間には有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。術後10日目までの合併症発生例は 5 例で、縫合不全 4 例、膵液瘻 1 例であった。

菌学的検査では、全経過を通じて、血液培養は陰性であった。また、培養された尿での真菌陽性例はなかつ

**Fig. 1** Positive rates in Cand-Tec test and  $\beta$ -D-glucan level after surgery. \*\*:  $p < 0.01$ , \*:  $p < 0.05$ , Fisher's test.



**Fig. 2**  $\beta$ -D-glucan level after surgery with or without perioperative complications. \*\*:  $p < 0.01$ , Student-t test.



た。

血清学的検査の陽性率のうち、カンジダ抗原陽性率は、術後2日目には42.8%に陽性で ( $p < 0.01$ )、10日目には52.4%と上昇した ( $p < 0.01$ )。一方、 $\beta$ -D-glucan 陽性率は術後2日目に有意に上昇したが ( $p < 0.01$ )、10日目には低下し ( $p < 0.05$ )、一過性的上昇であった (Fig. 1)。

各症例の  $\beta$ -D-glucan 値は、術後2日目に上昇し(平均  $9.1 \pm 7.6$  pg/ml)、10日目に低下(平均  $3.6 \pm 4.9$  pg/ml)するものが多くみられた。しかし、有合併症例では低下の割合が少ないか、もしくは10日目にさらに上昇した (Fig. 2)。

カンジダ抗原価では、各症例の変化は症例ごとにさまざまであったが、有合併症例では10日目まで抗原価が持続するか、または上昇した。カンジダ抗原陽性症例中の抗原価の変化は、2日目は+2陽性例が多かったが、10日目では+4以上陽性例が増加し、抗原価は上昇した (Fig. 3)。

カンジダ抗原価と  $\beta$ -D-glucan 値の関連は、術後2

Fig. 3 Cand-Tec test after surgery with or without perioperative complications.

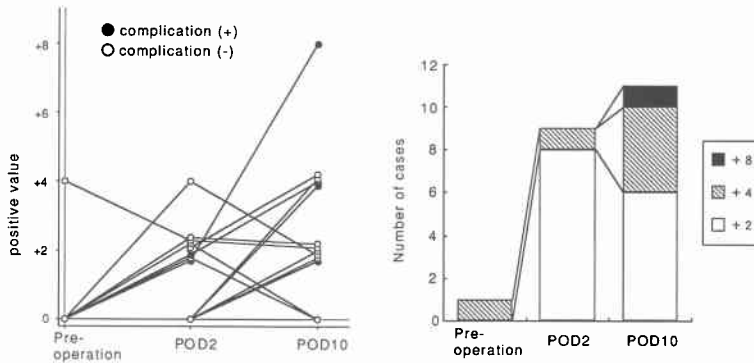
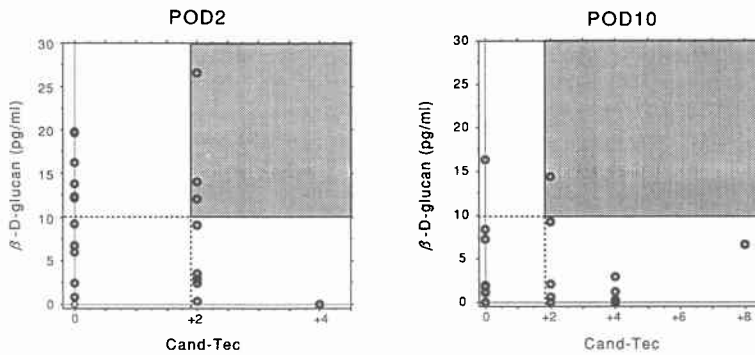


Fig. 4 Relation between Cand-Tec and  $\beta$ -D-glucan level after surgery.



日目,10日目のいずれにおいても相関を認めなかった。また、いずれも陽性であったものは、術後2日目で3例、術後10日目で1例と少なく、おのおの単独での陽性例が多かった (Fig. 4)。

手術侵襲と血清学的検査陽性率との関連は、出血量の増加に伴いカンジダ抗原は陽性率が上昇した。2日目のカンジダ抗原は、1,000cc以下の出血量では4/15例(26.7%)が陽性に過ぎず、逆に1,000cc以上の出血量では4/6例(66.7%)が陽性であった。さらに、10日目のカンジダ抗原は出血量1,000cc以上では6/6例(100%)と全例陽性で、出血量1,000cc以下での陽性例4/15例(26.7%)と有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。一方、 $\beta$ -D-glucanは2日目は出血量1,000cc以下でも9/15例(60%)が陽性で、出血量1,000cc以上での陽性例はなく、この間に有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。術後10日目の $\beta$ -D-glucanでは、差はなかった。

手術時間との関連では、いずれも有意差を認めないものの、カンジダ抗原は手術時間の増加とともに陽性率は上昇したが、 $\beta$ -D-glucanは手術時間と関連を認め

Table 1 Positive rates of Cand-Tec and  $\beta$ -D-glucan in operative blood loss and operation time

blood loss	<500cc	500~1,000cc	1,000cc $\leq$
Cand-Tec(POD2)	0/5(0)	4/10(40)	4/6(66.7)
Cand-Tec(POD10)	3/5(60)	1/10(10)	6/6(100)
$\beta$ -D-glucan(POD2)	3/5(60)	6/10(60)	0/6(0)
$\beta$ -D-glucan(POD10)	0/5(0)	1/10(10)	1/6(16.7)
operation time	<6hours	6~8hours	8hours $\leq$
Cand-Tec(POD2)	0/5(0)	4/9(44.4)	4/7(57.1)
Cand-Tec(POD10)	2/5(40)	3/9(33.3)	5/7(71.4)
$\beta$ -D-glucan(POD2)	2/5(40)	5/9(55.6)	2/7(28.6)
$\beta$ -D-glucan(POD10)	1/5(20)	0/9(0)	1/7(14.4)

\*\* :  $p < 0.01$ , \* :  $p < 0.05$ ,  $\chi^2$  test

なかった (Table 1)。

術式別の陽性率はカンジダ抗原、 $\beta$ -D-glucanのいずれにおいても差は認めなかった。しかし、食道切除例

**Table 2** Positive rates of Cand-Tec and  $\beta$ -D-glucan in different operative methods

	Esophagectomy	Total gastrectomy	Pancreatectomy
Cand-Tec (POD2)	66.7(4/6)	27.3(3/11)	50.0(2/4)
Cand-Tec (POD10)	40.0(2/5)	50.0(6/12)	75.0(3/4)
$\beta$ -D-glucan (POD2)	66.7(4/6)	36.4(4/11)	25.0(1/4)
$\beta$ -D-glucan (POD10)	16.7(1/6)	9.1(1/11)	0(0/4)

**Table 3** Comparison of blood test between positive and negative cases in Cand-Tec and  $\beta$ -D-glucan tests

Cand-Tec (POD2)	Positive group	Negative group	p value
FFA (POD2)	525.5 $\pm$ 316.7	212.4 $\pm$ 192.5	0.0221
Cand-Tec (POD10)	Positive group	Negative group	p value
blood loss	1,509.1 $\pm$ 1,129.6	648.3 $\pm$ 199.3	0.029
WBC (POD2)	12,209.1 $\pm$ 3,347.3	7,566.6 $\pm$ 3,348.5	0.0064
WBC (POD10)	12,090.9 $\pm$ 3,888.8	8,640.0 $\pm$ 2,533.4	0.0279
Pre-albumin (POD10)	11.0 $\pm$ 2.9	20.4 $\pm$ 9.7	0.0192
$\beta$ -D-glucan (POD2)	Positive group	Negative group	p value
blood loss	549.7 $\pm$ 144.8	1,494 $\pm$ 1,051.1	0.0159
WBC (POD10)	8,355.5 $\pm$ 1,799.3	12,622.2 $\pm$ 4,031.6	0.0105
albumin (POD10)	3.4 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.4	0.0045

mean $\pm$ S.D., Student-t-test.

では術後2日目のカンジダ抗原、 $\beta$ -D-glucan 陽性率は瘻切除例、胃全摘例にくらべ高かった (Table 2)。

カンジダ抗原および  $\beta$ -D-glucan を陽性群と陰性群で比較検討後、有意差のあった項目を (Table 3) に示した。それ以外の項目では有意差を認めなかった。

術後2日目のカンジダ抗原では、術後2日目の FFA 値のみで差を認め、陽性群が有意に高かった。一方、術後10日目のカンジダ抗原では、出血量および術後2日目および術後10日目の白血球数で陽性群が有意に高く、陽性群ではより侵襲が大きいものと思われた。また、栄養指標のうち、術後10日目のプレアルブミン値は陽性群で有意に低く、陽性群では栄養状態が悪化していた。

術後2日目の  $\beta$ -D-glucan では、カンジダ抗原とは逆に、出血量は陽性群で有意に少なかった。また術後10日目の白血球数、術後10日目のアルブミン値も陽性群のほうが正常域に近く、 $\beta$ -D-glucan は侵襲の程度、栄養状態と関連を認めなかった。

術後10日目の  $\beta$ -D-glucan は、陽性群は2例のみであったため、統計学的検討は行いえなかった。

## 考 察

今回の検討では、血液培養の陽性例はなかった。しかし、真菌の菌体成分を検出するカンジダ抗原価および  $\beta$ -D-glucan 値は、術後早期に42.9%と高率に陽性となることが明らかとなり、消化器外科手術後早期には一過性の真菌血症が生じることが示された。また、陽性例では術中出血量や術後白血球数の増加、プレアルブミン値の低下がみられ、手術侵襲や炎症反応が大きく、低栄養のもので生じていた。

一般に、深在性真菌症での血液培養陽性率は30%と低いとされており、今回の培養と血液検査との差も同様の現象と考えられる。

術前後の推移でみると、真菌感染症に特異性が高いとされる  $\beta$ -D-glucan 値<sup>9)</sup>陽性率は術後2日目に有意に上昇し、10日目には低下したが、このような  $\beta$ -D-glucan 値の術後一過性の上昇は、G 因子活性化因子として、食道癌手術<sup>10)</sup>や食道静脈瘤手術<sup>11)</sup>の術後1日目の一過性の上昇が報告されており、我々の結果とほぼ一致している。また、真菌感染症に感受性が高いとされるカンジダ抗原価<sup>9)</sup>の測定でも、術後2日目、10日目

の陽性結果が得られ、消化器外科手術後には真菌の細胞壁に由来する物質が高率に血中に出現する可能性が示唆された。しかし、今回の検討ではエンドトキシンに特異的に反応するエンドスペーテストでは陽性例がみられず、真菌成分のみが血中に出現したものと推察された。

このような術後の真菌血症の機序としては、腸管虚血や術中の manipulation<sup>12)</sup>が考えられているが、内因性真菌血症の侵入門戸と考えられている腸管そのものの manipulation の直後に生じ、同時に測定した腸管の integrity のマーカーとされる DAO 活性の低下と併せて考えると<sup>13)</sup>、microbial translocation が想定される。また、熱傷後の腸管血流の低下が *Candida albicans* の translocation を促進する<sup>14)</sup>という報告と、カンジダ抗原価陽性率が術中出血量の増加症例で高値である今回の結果とを併せて考えると、術中出血量の増加が腸管虚血を招き、このことが microbial translocation の一因となったと想定される。さらに、カンジダは肝・肺の細網内皮系 (RES) で処理されるため<sup>15)</sup>、術後の RES 機能低下時には血中で陽性になるが、RES 機能が回復すると陰性化するものと考えられ、開胸を要する食道癌や、黄疸や肝障害を伴いやすい肝・胆・膵手術で高頻度になると考えられる。一過性の真菌血症という点では、熱傷患者の創の処置時に一過性の真菌血症が生じる結果とも一致している<sup>16)</sup>。

ところで、今回測定した  $\beta$ -D-glucan 値とカンジダ抗原価の相関をみたところ、共に陽性であった症例は術後 2 日目、10 日目とも少なく、単独での陽性例が大部分であった。このことは、平松ら<sup>17)</sup>も報告しており、 $\beta$ -D-glucan 値とカンジダ抗原価の真菌成分の検出スペクトル、感度、特異性が異なることから、陽性率、術後の変化に差がみられたものと解釈される。

術中出血量が多い症例で、カンジダ抗原価は高かったが、 $\beta$ -D-glucan 値では逆に陽性率は低下した。また、白血球数、出血量、アルブミン値に関しては、 $\beta$ -D-glucan 値陽性群では逆に正常範囲に近く、カンジダ抗原価陽性群ではそれらは異常値を示した。これらは、カンジダ抗原価のほうが術後侵襲に伴う生体反応を鋭敏に反映することを示している。また、この結果は術後の  $\beta$ -D-glucan 値の変動が手術侵襲や年齢で差を認めないとする報告<sup>10)</sup>とも一致する。

カンジダ抗原価と  $\beta$ -D-glucan 値の乖離の原因の 1 つに測定法の問題があげられる。今回エンドトキシンの測定に際し、血液検体の前処理を過塩素酸にて行う

PCA 法を用いた。ところが最近になって、PCA 法の沈殿中にもエンドトキシンが含まれることが報告され、New PCA 法という前処理法が考案されている<sup>18)</sup>。New PCA 法での  $\beta$ -D-glucan 値<sup>10)11)</sup>は我々の測定結果よりも数段高値であり、したがって今回の  $\beta$ -D-glucan 値の測定値が実際の活性値よりも低く、そのためカンジダ抗原価との間に相関がなく、他の因子との間に差を認めない可能性が考えられる。また、カンジダ抗原価は +2 以上を陽性としたが、これには偽陽性も含まれ、必ずしも真菌感染症を反映していない可能性もあり、今後の検討を要する。

最後に、術後一過性真菌血症の病態への関与であるが、術後合併症を併発すると真菌血症・内臓真菌症(真菌性眼内炎)に発展する可能性がある。今回の結果では症例数が少なく、また臨床的に真菌血症と診断されたものはなかったが、術後合併症発症例ではカンジダ抗原価、 $\beta$ -D-glucan 値は漸増、または持続しており、より重篤な状態では容易に真菌血症に移行する可能性が示唆された。また、後藤ら<sup>19)</sup>は  $\beta$ -D-glucan によりマクロファージの活性化が起こり、炎症反応を引き起こされるとともに臨床症状とも関連があることを報告している。このことは、真菌成分が血中に存在することでも術後の病態を増悪させる可能性があることを示している。この現象をより明らかにすることが、周術期管理として重要と考えられる。

#### 文 献

- 1) Eubank PJ, Virgilio C, Klein S et al: Candida sepsis in surgical patients. *Am J Surg* 166: 617-620, 1993
- 2) 上野圭一, 宮崎逸夫: 術後真菌感染症の治療. *消外* 17: 101-107, 1994
- 3) 辻仲利政, 上林純一, 今岡真義ほか: 消化器外科領域における深在性真菌症の発生・診断および治療についての多施設共同研究. *日外会誌* 95: 217-223, 1994
- 4) 谷村 弘, 角田卓也, 森 一成ほか: 消化器手術と真菌症. *臨科学* 26: 541-550, 1990
- 5) Nolla-Salas JC, Leon C, Torres-Rodriguez JM et al: Treatment of candidemia in critically ill surgical patients with intravenous fluconazole. *Clin Infect Dis* 14: 952-954, 1992
- 6) 土師誠二, 宇佐美真, 小谷稔治ほか: 消化器手術後の深在性真菌症に対する経腸栄養の予防効果に関する臨床的検討. *輸液栄養ジャーナル* 15: 1259-1261, 1993
- 7) Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF et al: The process of microbial translocation. *Ann*

- Surg 212 : 496—512, 1990
- 8) 木下承皓, 福岡恵子, 中町祐治ほか: 深在性カンジダ症の血清学的検査の評価. 臨と微生物 22 : 95—101, 1995
  - 9) 前崎繁文, 河野 茂, 山田 洋ほか: カンジダ血症における抗原検出法としての血清診断法の検討. 感染症誌 65 : 1091—1096, 1991
  - 10) 北村道彦, 西平哲朗, 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
  - 11) 菊地 充, 渡辺正敏, 中村隆二ほか: 食道静脈瘤術後におけるリムルステストを用いたエンドトキシン血症の検討—発色合成基質の相違による乖離現象について—. 日消外会誌 27 : 2517—2522, 1994
  - 12) Gaines JD, Remington JS: Disseminated candidiasis in the surgical patient. Surgery 72 : 730—736, 1972
  - 13) 宇佐美真, 土師誠二, 阪田和哉ほか: 消化器手術後の血中 DAO 活性の変動と microbial translocation. 外科と代謝・栄 29 : 439—445, 1995
  - 14) Gianotti L, Alexander JW, Fukushima R et al: Translocation of *Candida albicans* is related to the blood flow of individual intestinal villi. Circ Shock 40 : 250—257, 1993
  - 15) Katz S, Merkel GJ, Folkening JW et al: Impaired clearance and organ localization of *Candida albicans* in obstructive jaundice. J Pediatr Surg 26 : 904—907, 1991
  - 16) Vindenes H, Bjerknes R: The frequency of bacteremia and fungemia following wound cleaning and excision in patients with large burns. J Trauma 35 : 742—749, 1993
  - 17) 平松義文, 栗本修次, 乾 広幸ほか: 消化器癌症例における真菌 Colonization の実態と周術期真菌感染症治療の問題点. 日臨外医会誌 55 : 2451—2456, 1994
  - 18) 高橋和彦: 発色合成基質を用いたヒト内毒素微量定量法に関する研究. 岩手医誌 40 : 67—81, 1988
  - 19) 後藤 元, 湯浅和美, 島田 肇ほか:  $\beta$ -1-3 グルカンおよびエンドトキシンの呼吸器に対する生物活性. 第2回エンドトキシンシンポジウム講演記録集. 1989, p61—65

### Prospective Evaluation of Perioperative Fungemia in Patients after Gastrointestinal Surgery

Seiji Haji, Makoto Usami, Akihiro Hirai, Kazuya Sakata, George Kotani, Atsunori Iso,  
Taichi Kanamaru, Hiroshi Kasahara, Masahiro Yamamoto and Yoichi Saitoh  
First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine

Fungemia in patients after gastrointestinal surgery was investigated. Twenty-two patients after major surgery including 6 with esophagectomy, 12 with total gastrectomy and 4 with pancreatectomy, were entered in the evaluation. Blood samples were collected before the operation and 2 and 10 days after the operation (POD). *Candida* antigen assay by the LA method (Cand-Tec test),  $\beta$ -D-glucan level by the Limulus test (the difference between Toxicolor and Endospecky test) and blood culture were performed. Both Cand-Tec and  $\beta$ -glucan levels at POD 2 were positive in 42.8% of the patients without obvious foci of fungal infection ( $p < 0.01$ ), suggesting microbial translocation. Blood culture of all samples were negative. Patients after esophagectomy showed high positive rates in Cand-Tec and  $\beta$ -D-glucan levels among the different operation methods without a significant difference. A Positive rate in the Cand-Tec test was associated with operative blood loss, increased white blood cell counts and poor nutritional state after the operation, indicating surgical stress and malnutrition as a cause of microbial translocation. It is concluded that transient microbial translocation occurs after gastrointestinal surgery.

**Reprint requests:** Seiji Haji First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine  
7-5-2 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe, 650 JAPAN