

エンドトキシンショックの病態に関する実験的研究
—Chemical Mediators と網内系機能よりみた抗ショック剤の効果—

後藤 幸夫

札幌医科大学外科学第1講座 (主任 早坂 滉 教授)

Experimental Studies for Pathophysiology of Endotoxin Shock
— Effects of Anti-shock Agents on Chemical Mediators and RES Function —

Yukio GOTOH

Department of Surgery (Section I), Sapporo Medical College

(Chief : Prof. H. Hayasaka)

The effects of prostacyclin (PGI₂) and reduced glutathione (GSH) in rabbits given *E. coli* endotoxin (1mg/kg, i. v.) were studied. The conclusions are summarized as follows:

1. Plasma serotonin and histamine concentrations gradually elevated after endotoxin challenge. PGI₂ and GSH treatments inhibited the elevation of these mediators.

2. Plasma β -glucuronidase concentration gradually elevated after endotoxin challenge. PGI₂ and GSH treatments inhibited its elevation.

3. RES function was measured by lipid emulsion at 120 min. after endotoxin challenge. It was significantly depressed in endotoxin shock. PGI₂ and GSH treatments improved RES dysfunction.

4. Plasma endotoxin concentrations were measured by MCA-substrate. Plasma endotoxin concentrations diminished within 120 min. after endotoxin challenge, but thereafter elevated again. This elevation phenomenon seemed to be due to the entrance of "intrinsic endotoxin" from the rabbit intestinal flora into the systemic circulation. In the groups receiving PGI₂ and GSH treatments, the plasma endotoxin concentration was maintained at a level lower than that for the nontreated groups and the elevation phenomenon was not recognized. PGI₂ and GSH treatments seemed to accelerate clearance of administered endotoxin from circulating blood and to inhibit the entrance of "intrinsic endotoxin" into the systemic circulation. PGI₂ and GSH treatments improved survival rates from 42.9% to 85.7% and from 40% to 80%, respectively.

The above results suggest that chemical mediators, RES function and "intrinsic endotoxin" play important roles in the pathophysiology of endotoxin shock.

(Received January 18, 1983 and accepted March 22, 1983)

Key words: Endotoxin, Prostacyclin (PGI₂), Reduced glutathione (GSH), Chemical mediators, RES function

1 諸 言

1960年代を境にして敗血症の起原因菌がグラム陽性菌からグラム陰性菌へと大きく変貌した。その原因として、高齢者や糖尿病、肝硬変、癌患者などの poor risk 症例に外科手術の適応が拡大されるようになったこと、ステロイドや免疫抑制剤、抗癌剤などの導入、無

制限な予防的な抗生物質の投与と抗生物質への過信などがあげられる¹⁾。Levin and Bang²⁾により Limulus test を用いて血中のエンドトキシン (Et) を容易に検出することができるようになってから、Et がグラム陰性菌敗血症に伴うショックと密接な関係にあることがわかってきた。Et ショックは Et の生物活性が多彩のため、他のショックに比較して病態が複雑多岐にわたり、

いまだ有効確実な治療法がないのが現状である³⁾。

近年、アラキドン酸から生成される種々のプロスタグランジン(PG)およびその関連物質が、Etショック時に血中に放出され、その病態に重要な役割を演じている可能性が示唆されている⁴⁾。インドメサシンやアスピリンなどのPG合成阻害剤⁵⁾やThromboxane A₂(TxA₂)の合成阻害剤⁶⁾の投与により、Etショックの病態が軽減され、死亡率を減少させたとの報告がある。PGの前駆物質であるアラキドン酸⁷⁾やPGE₁⁸⁾、prostaglandin(PGI₂)⁹⁾の投与が、ショックを予防し生存率の改善をもたらしたとの報告も散見するが、ショック時のPGの病態生理学的意義はいまだ十分に解明されていない。

一方、SH化合物で生体に大量に存在する還元型グルタチオン(GSH)がショック時に減少し、GSHを投与することにより微小循環の改善など種々の作用でステロイドに匹敵する効果を認め、ショックの改善に有効であることが示唆されている^{10,11)}。

Etショックでは原因対策は勿論のこと、有力な補助療法としてステロイドなどが用いられているが、その治療成績はいまだ充分とはいえない現状である。

そこで著者は家兎にEtショックを作製し、ショック時に血中に放出され¹²⁾、強力な血小板凝集抑制作用や血管拡張作用をもつPGI₂¹³⁾とショック時に減少するというGSHを投与し、主としてchemical mediators, 網内系機能, 血漿Et濃度を検討し、家兎Etショック時の病態とPGI₂およびGSHの抗ショック作用について新しい知見を得たので報告する。

2 実験材料および方法

2.1 エンドトキシンおよび動物

Etは、E. coli 0127: B8 lipopolysaccharide B. (Difco Lab.)を注射用生理食塩水(生食)で1 mg/mlの濃度に溶解し、-20℃に凍結保存し、使用時溶解、希釈して使用した。

実験動物は体重2.0-3.0 kgの成熟白色家兎78羽を使用した。

2.2 実験方法

2.2.1 実験的Etショック家兎の作製

Pentobarbital sodium(Nembutal) 25 mg/kgで静脈麻酔後、大腿動脈および静脈にポリエチレンカテーテルを挿入固定し、動脈は採血、血圧測定、静脈はEt、薬物等の注入用とした。静脈麻酔後60分より実験を開始し、Etは1 mg/kgを生食で全量5 mlとして1分間かけて注入した。

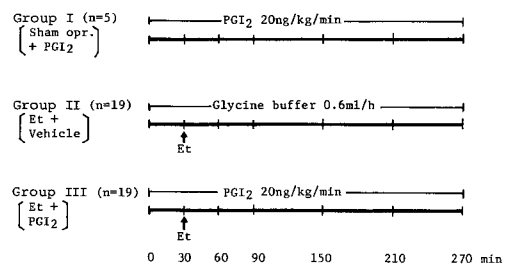
2.2.2 薬物投与方法

PGI₂はPGI₂-Na(小野薬品工業)をglycine+NaCl-NaOH緩衝液pH 10.5(glycine緩衝液)で溶解し、冷却下で持続注入ポンプ(Automatic Infusion Pump 1 H-type, ATOM)にて注入。GSH(タチオン、山之内製薬)は500 mg/kgを生食20 mlに溶解し、点滴静注で投与した。

2.2.3 実験 1

家兎43羽を使用し、以下の3群に分けた。I群(5羽)はPGI₂のみ20 ng/kg/minの速度で4時間半持続注入した群、II群(19羽)はEt 1 mg/kg静注前30分よりglycine緩衝液を0.6 ml/hの速度で4時間半持続注入した群、III群(19羽)はEt 1 mg/kg静注前30分よりPGI₂ 20 ng/kg/minを4時間半持続注入した群とした(Fig. 1)。

Experiment 1



Experiment 2

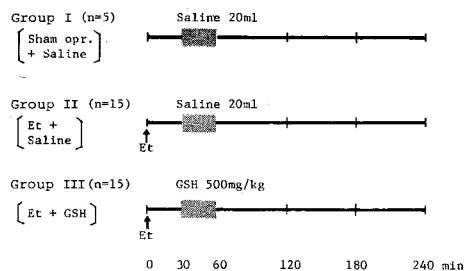


Fig. 1 Designs for experiment 1 and 2.

Et; E. coli 0127: B8 LPS B 1 mg/kg I. V.
GSH; reduced glutathione

2.2.4 実験 2

家兎35羽を使用し、以下の3群に分けた。I群(5羽)は生食20 mlを30分間点滴静注した群、II群(15羽)はEt 1 mg/kg静注後30分より生食20 mlを30分間点滴静注した群、III群(15羽)はEt 1 mg/kg静注後30分よりGSH 500 mg/kgを30分間点滴静注した群とした(Fig. 1)。

2.2.5 試料の採取

2.2.5.1 実験1の試料採取

I群はPGI₂投与前, PGI₂投与後30, 60, 90, 150, 210, 270分に採血し, II群, III群はEt投与前30分, Et投与直前, Et投与後30, 60, 120, 240分に採血した。採血にはポリエチレンシリンジを使用し, その内壁をヘパリンでぬらす程度とし, その後採血量と同量の生食を注入した。ヘパリン血はただちに3,000 rpm 30分間冷却遠心後, 血漿を分離し後述の測定実施まで-20°Cで冷凍保存した。

2.2.5.1 実験2の試料採取

I群は生食投与前30分, 生食投与直前, 生食投与後30, 90, 150, 210分に採血し, II群, III群は, Et投与前, Et投与後30, 60, 120, 180, 240分に採血した。採血方法やその後の処理は実験1と同じである。

2.2.6 動脈圧の測定

末梢動脈圧は大腿動脈に挿入したカテーテルより圧トランスデューサー(GOULD statham P 50型)を介して, 多用途監視記録装置(日本光電 PM-6)で測定記録した。

2.2.7 肝組織血流量

上腹部正中切開後, ワイヤタイプ(UHE-201, ユニークメディカル)のセンサーを呼吸の影響の少ない肝右葉下部に刺入し, Aukland *et al.*¹⁴⁾の水素ガスクリアランス法(UHメーター, PHG-201, ユニークメディカル)で測定した。

2.2.8 網内系機能の測定

Et投与後120分に, Kim and Pfeifer¹⁵⁾の方法に準じて10% lipid emulsion(イントラリポス, ミドリ十字)50 mg/kgを2分以上かけて注入。注入終了後より2分間隔で10分までヘパリン加で2 mlずつ採血し, その後血漿混濁度を分光光度計(島津 UV-200)波長580 nmで測定した。その値を片対数表にプロットし, 血漿中からの半減時間を算出し, 網内系機能の指標とした。

2.2.9 試料の測定

2.2.9.1 血漿セロトニンの測定

Udenfriend *et al.*¹⁶⁾の変法である佐々木¹⁷⁾の方法で, 蛍光分光光度計(島津 RF-510)を用いて定量した。

2.2.9.2 血漿ヒスタミンの測定

Shore *et al.*¹⁸⁾の原法を改良した変法^{19,20)}で, 蛍光分光光度計を用いて定量した。

2.2.9.3 血漿β-glucuronidaseの測定

p-nitrophenyl-β-D-glucuronidase (SIGMA) 0.1 M溶液を基質とし, 0.1 M acetate buffer pH 4.0 0.35 mlに血漿0.1 ml, 基質溶液0.05 mlを加え37°C

時間インキュベートし, 0.2 N NaOH 3 mlを加えて反応を停止した²¹⁾。分光光度計を用い, 波長400 nmで吸光度を測定し定量した。

2.2.9.4 血小板の測定

Brecher-Cronkite²²⁾法(Unopette, Becton-Dickinson)により位相差顕微鏡で算出した。

2.2.9.5 血液ガス分析

全自動ガス分析装置(ABL2, RADIOMETER)にて測定した。

2.2.9.6 血漿Et濃度の測定

原田ら²³⁾の方法に従い, 合成基質(Boc-Leu-Gly-Arg-MCA, ペプチド研究所)を用いて定量した。血漿は注射用蒸留水で4倍希釈し, 100°C10分間加熱処理したものを検体とした²⁴⁾。Lysateはブレゲル(帝國臓器)を使用し, 発色基質としてMCA(4-methylcoumarin amide)を使用した。

3 実験成績

3.1 生存率

生存率はEt投与後24時間で判定した。PGI₂投与群は14羽中12羽85.7%, PGI₂非投与群は14羽中6羽42.9%であり, χ^2 検定で有意に(P<0.05) PGI₂投与群の生存率が改善された(Fig. 2)。またGSH投与群は10羽中8羽80%, GSH非投与群は10羽中4羽40%であり, 統計学的有意差はないが, GSH投与により生存率の改善傾向が認められた(Fig. 3)。

3.2 動脈圧の変動

平均動脈圧はEt投与後30, 60分と低下し, その後は低値を続け回復は認められなかった。PGI₂投与群は

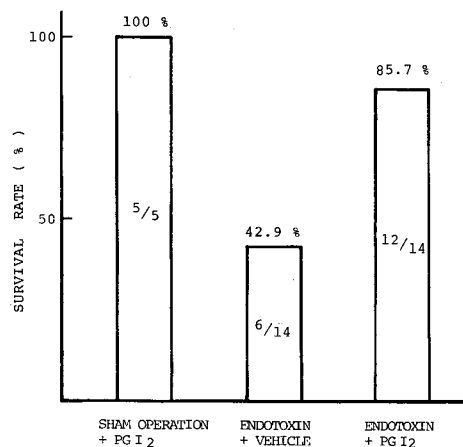


Fig. 2 Survival rate of rabbits at 24 hours after endotoxin (1mg/kg) administration.

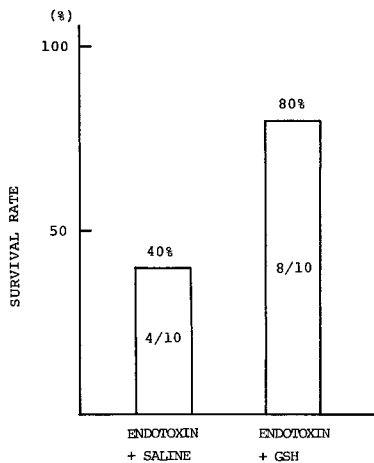


Fig. 3 Survival rate of rabbits at 24 hours after endotoxin (1mg/kg) administration.

PGI₂ 投与により約5%の血圧低下を認めたが、Et 投与後は非投与群と同様の変動を認めた (Fig. 4)。一方、GSH 投与群は非投与群と同様の血圧変動であった。

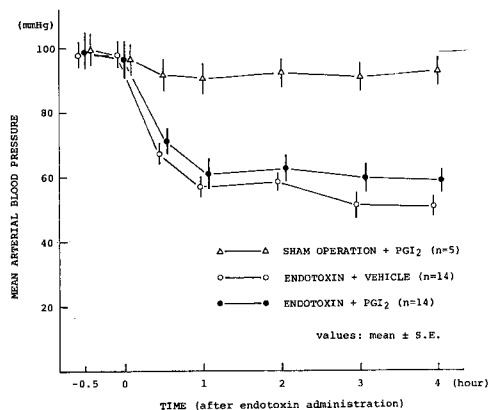


Fig. 4 Alteration in mean arterial blood pressure in three groups of rabbits during the experimental period.

3.3 肝組織血流量の変動

肝組織血流量はEt 投与後30, 60分と低下しその後Et 投与前の67%前後のまま経過した。PGI₂ 投与群はPGI₂ 投与により10数%上昇し、Et 投与後はPGI₂ 投与前の87%前後に減少するがその程度は少なく、PGI₂ 投与により肝組織血流量の減少は抑制されていた (Fig. 5)。GSH 投与群では非投与群と同様の減少を示し、肝組織血流量の改善は認められなかった。

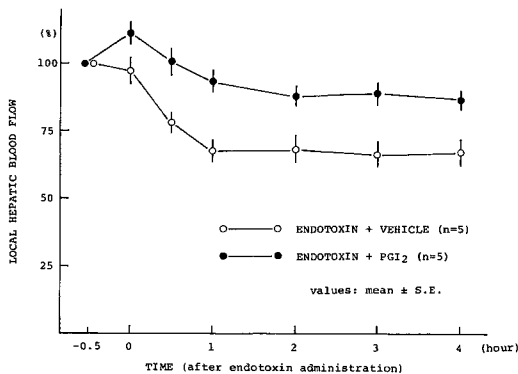


Fig. 5 Variation rate of local hepatic blood flow in three groups of rabbits during the experimental period.

3.4 網内系機能の変動

3.4.1 実験1での網内系機能の変動

I 群の lipid emulsion の血中半減時間は 7.7 ± 0.6 (mean \pm S. E.) 分であり、II 群は 25.1 ± 1.1 分と延長し、III 群でも 14.9 ± 0.8 分と延長しており、Et ショックで網内系機能が障害されていることが認められた。しかし III 群は II 群に比しその延長は軽度であり、PGI₂ 投与により有意に ($P < 0.001$) 網内系機能の低下が抑制された (Fig. 6)。

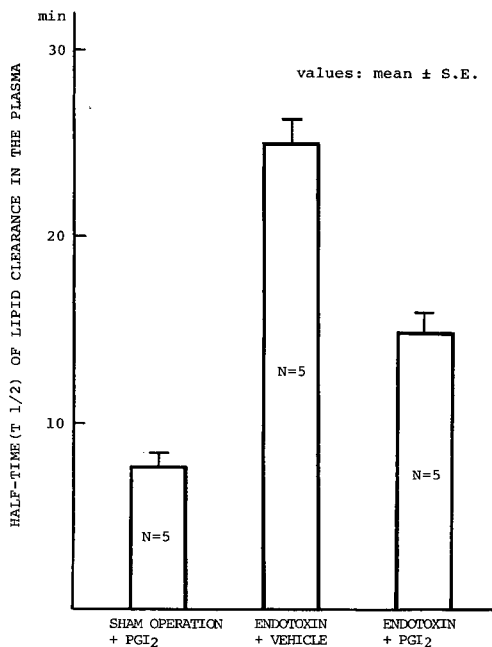


Fig. 6 RES function; the half-time (T 1/2) of lipid clearance in the plasma (at 120 min after endotoxin administration)

3.4.2 実験2での網内系機能の変動

I 群の lipid emulsion の血中半減時間は 8.3 ± 0.8 (mean \pm S. E.) 分であり, II 群では 23.0 ± 1.1 分と延長し, III 群でも 15.1 ± 0.8 分と延長したが II 群に比し有意に ($P < 0.001$) 改善され, GSH 投与により網内系機能の低下が抑制された (Fig. 7).

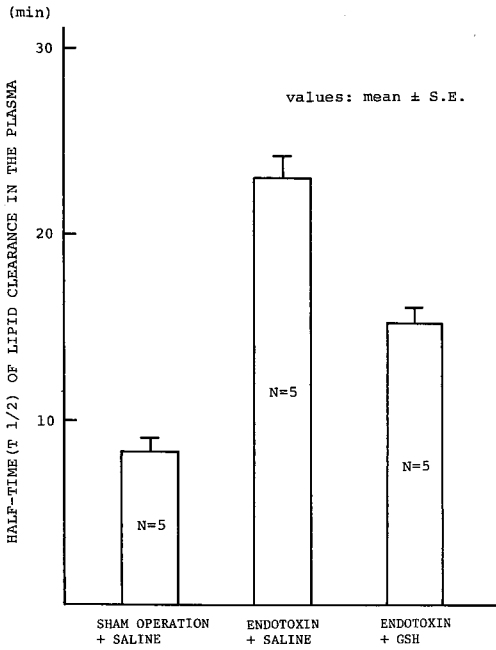


Fig. 7 RES function; the half-time (T 1/2) of lipid clearance in the plasma (at 120 min after endotoxin administration)

3.5 血漿セロトニンの変動

標準セロトニン (SIGMA) を用いた回収率は約 85% であった。血漿セロトニンは Et 投与後経時的に増加す

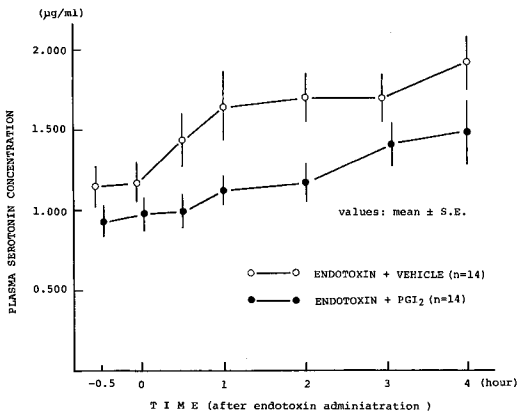


Fig. 8 Change of plasma serotonin concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

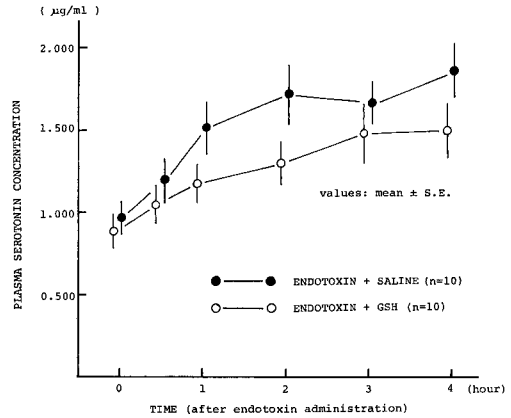


Fig. 9 Change of plasma serotonin concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

るが, PGI₂ 投与によりその増加の程度は低く, 30, 60, 120 分では有意に ($P < 0.01$) 低値を示し, PGI₂ は血漿セロトニンの増加を抑制していた (Fig. 8). また, GSH 投与群でも血漿セロトニンは増加するが非投与群に比しその程度は低く, 60, 120 分で有意に ($P < 0.05$) 低値を示し, GSH による血漿セロトニン増加抑制が認められた (Fig. 9).

3.6 血漿ヒスタミンの変動

標準ヒスタミン (半井化学薬品) を用いた回収率は約 84% であった。血漿ヒスタミンは Et 投与後は徐々に増加し, Et 投与後 120 分から 240 分まではほぼ同じ高値を示した。PGI₂ および GSH の投与により, ヒスタミンの上昇は抑制される傾向にあり, とともに Et 投与後 180 分で有意差 ($P < 0.05$) が認められた (Fig. 10, 11).

3.7 血漿 β -glucuronidase の変動

血漿 β -glucuronidase は Et 投与後経時的に増加するが, PGI₂ 投与によりその増加は Et 投与後 30, 120,

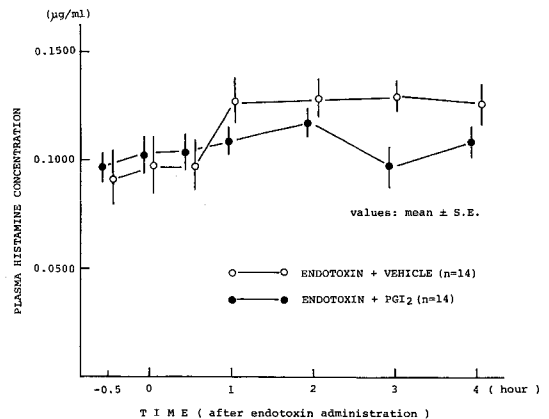


Fig. 10 Change of plasma histamine concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

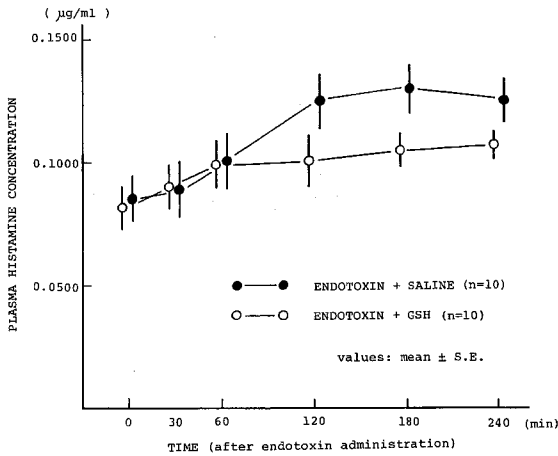


Fig. 11 Change of plasma histamine concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

180, 240分で有意に ($P < 0.05$) 抑制され (Fig. 12), GSH投与でもEt投与後180, 240分で増加が抑制されていた (Fig. 13).

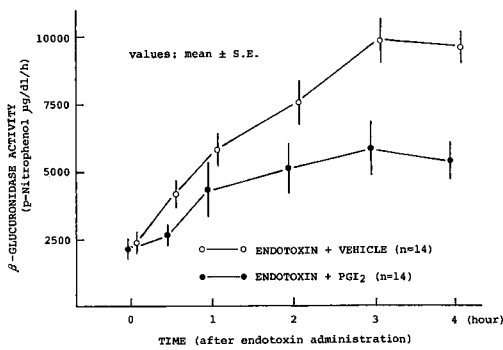


Fig. 12 Alteration in the plasma β -glucuronidase activity after endotoxin (1mg/kg) administration.

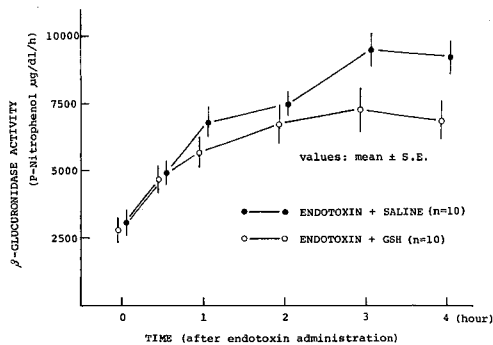


Fig. 13 Alteration in the plasma β -glucuronidase activity after endotoxin (1mg/kg) administration.

3.8 血小板数の変動

Et投与後30分では血小板数は著しく減少し、その後増加する傾向にあったが、180, 240分と再度減少した。PGI₂投与後もEt投与後30分で減少し、その後増加したがもとのレベルまでには回復しなかった (Fig. 14). GSH投与群もPGI₂投与群と同様の傾向を示した。

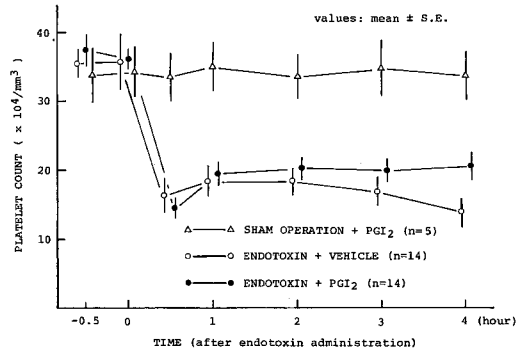


Fig. 14 Alteration in platelet count in three groups of rabbits during the experimental period.

3.9 血液ガス分析

血液pHはEt投与後30, 60分と上昇し、その後は減少した。PGI₂投与群も同様の傾向であったが、PGI₂

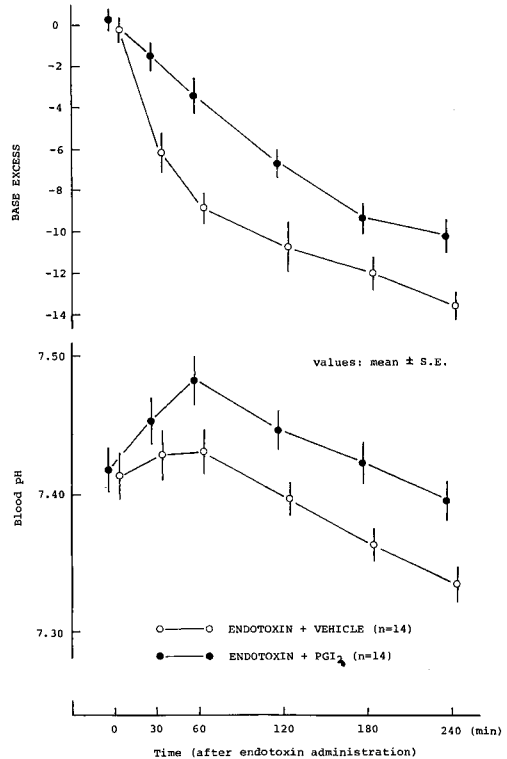


Fig. 15 Changes of blood pH and base excess in rabbits after endotoxin (1mg/kg) administration.

非投与群に比して Et 投与後 60 分以降は高い値であった。また base excess は Et 投与後より減少し、 PGI_2 投与によりその減少は抑制された (Fig. 15)。一方、GSH 投与群の血液 pH, base excess の変動は非投与群と同様の傾向を示し、GSH による血液ガス分析上の改善は認められなかった。

3.10 血漿 Et 濃度の変動

標準 Et として E. coli 0127: B8 lipopolysaccharide B (Difco Lab.) を使用した際の回収率は 19.8–81.4% (添加 Et 濃度 100 ng–100 pg/ml) と Et 添加量で異なった。血漿 Et 濃度は Et 投与後 30, 60, 120 分と減少するが、その後増加する現象を示した。 PGI_2 および GSH の投与により、血漿 Et 濃度は低く保たれ、Et の血漿からの消失が促進され、しかも 180 分以後の Et 濃度の上昇も認められなかった (Fig. 16, 17)。

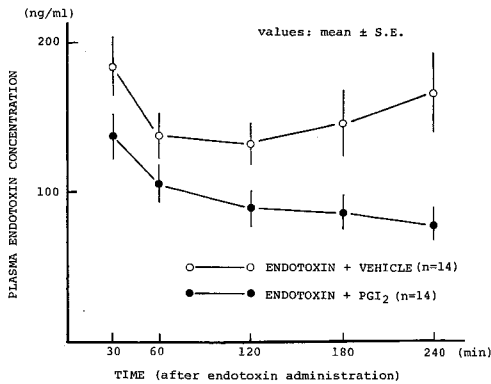


Fig. 16 Alteration in plasma endotoxin concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

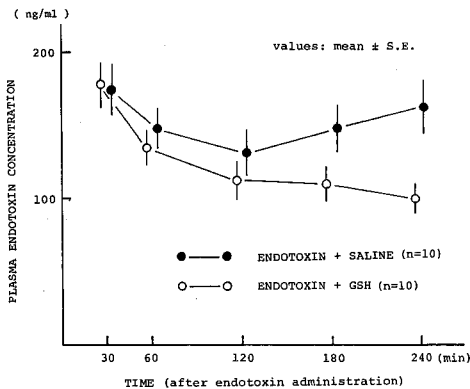


Fig. 17 Alteration in plasma endotoxin concentration after endotoxin (1mg/kg) administration.

考 察

Et に対する生体反応の大部分は広義の炎症反応といえるが、非常に多彩であり、その病態生理は複雑で未だ十分に解明されていないのが現状である。

血中に入った Et は中胚葉系の細胞である血小板、顆粒球などと結合し網内系に運搬されそこで処理される²⁵⁾。網内系で処理されなかった Et はさらに補体系のおもに alternative pathway を活性化し、anaphylatoxin 産生、白血球遊走、血小板破壊、ライソゾーム酵素遊離に働く²⁶⁾。一方 Et に活性化された Hageman factor は、プレカリクレインをカリクレインに変換することによりキニン生成を引き起こす。大量のキニンが産出されると、血管平滑筋に作用し、微小循環障害をおこし血管透過性を高め、また血管の凝固を促進し血小板を凝集させる²⁷⁾。また Et は Hageman factor やプラスミンを介して凝固線溶系にも作用して、disseminated intravascular coagulation (DIC) を誘発するものと考えられる²⁸⁾。これらの補体系・キニン・カリクレイン・凝固線溶系の 3 系により放出された種々の物質により、末梢循環不全に陥り、有効循環血流量の減少をきたし、ショックの悪循環を形成するものと推測される。放出される物質として、セロトニン、ヒスタミン、カテコールアミン、ブラディキニンなど種々の chemical mediators が考えられ、Et がそれらの遊離に trigger としての役割を果たすとされている²⁹⁾。

一方、アラキドン酸カスケードとショックも密接な関係にあるとされ、室田³⁰⁾によれば細胞膜にヒスタミンやブラディキニンなどが作用すると、膜のリン脂質にあるアラキドン酸を細胞内に遊離させる phospholipase A_2 が活性化される。ステロイドは phospholipase 阻害タンパク質の生合成を誘導し、間接的に PG 合成を阻害し、これがステロイドの抗炎症作用機序のひとつとされている。細胞内に遊離されたアラキドン酸はミクロゾームに存在する, cyclooxygenase の働きにより、 PGG_2 に変換されるがアスピリンなどはこの反応を阻害する。 PGG_2 は不安定なので PGH_2 へと変わるが、この時放出されるフリーラジカルが細胞や組織を障害するため、この scavenger である還元型グルタチオンが抗炎症、抗ショック剤として作用することが考えられる。 PGH_2 はさらに PGI_2 や TxA_2 などへと変化していくといわれている。

セロトニンは哺乳類の胃腸粘膜にある enterochromaffine 細胞で生産され、血中では血小板に取り込まれて存在し、血小板の凝集破壊により血漿中に遊離する

とされている。Des Prez *et al.*³¹⁾は多血小板血漿に *in vitro* で Et を加えると血小板が凝集し、セロトニンが遊離することを認めており、家兎に Et を投与し血小板が減少するとともにセロトニンが増加したという報告もある³²⁾。著者の実験でも Et 投与後、血小板数の減少とセロトニンの経時的な増加を認めた。このセロトニンの増加は血小板由来のほか、腸管の虚血のための enterochromaffine 細胞の損傷による放出増加が考えられ、またセロトニンは肺で多くが不活化されることから、Et による肺損傷のための不活化低下も原因しているものと推定される。PGI₂、GSH の投与により、ともにセロトニンの増加は軽度であった。

Schayer³³⁾が致死量の Et を静注した際に、ヒスタミンが増加することを認めてから、ヒスタミンがショックでの毒性因子として注目されるようになった。ヒスタミンの点滴静注後、血漿および腹水中に Et が放出されたとの報告³⁴⁾からも、ヒスタミンは Et ショックの trigger のひとつと考えられている。著者の実験では Et 投与後、経時的にヒスタミンが増加する傾向を認めたが、PGI₂、GSH の投与によりその増加は抑えられ軽度であった。北村ら³⁵⁾はモルモットの感作肺組織からのヒスタミン放出に対して、PGI₂ は抑制的に作用することを報告している。

Et 投与により、家兎では数分で血圧は低下し、その後ある程度回復するが再び低下する。初期の血圧低下には、ヒスタミン、キニン、PG などが関与するといわれている。PG 合成阻害剤であるインドメサシンの前投与により、Et 投与後の初期血圧低下が抑えられ、死亡率の低下が認められたとの報告もあるが³⁶⁾、鹿取³⁷⁾は初期の血圧低下はインドメサシンでは抑制されず、それにはキニン系が関与しており後期の血圧低下に PG が関与していると指摘した。

PGI₂、GSH ともに血小板凝集抑制作用のあることが認められているが^{13,38)}、Et 投与による血小板数の減少の過程は対照群と比較して有意差は認められなかった。しかし、血小板の形態、機能についての検討は、今回の実験で行っていないので不明である。血行および代謝変化でショックに類似する体外循環に PGI₂ を使用した実験では、血小板数の減少は対照群と同様であったが、血小板の形態および機能に関しては、対照群では血小板外殻をみるのみで ADP による凝集能も低下していたが、PGI₂ 投与群では偽足を出し活動期にある血小板が大部分であり、血小板凝集能の低下は認められなかったと報告されている³⁹⁾。

急性 hypoxia 時の肺血管収縮の mediator としてカ

テコールアミン、セロトニン、ヒスタミン、キニン、アンジオテンシンなどがあげられているが、hypoxia 時には肺より血管拡張作用をもつ PGI₂ が合成、放出されることも証明されている⁴⁰⁾。宮沢ら⁴¹⁾はオレイン酸で肺水腫犬を作製し、PGI₂ 投与によりガス交換面での改善を認めており、PGI₂ により肺内平滑筋弛緩作用および血小板凝集阻止作用などを介して肺血管内皮細胞に変化を起こし、肺水分平衡を変化させたと推測している。Et 投与により肺動脈圧が亢進し、肺血管透過性亢進、肺水腫が惹起され、TxA₂ の関与の可能性が指摘されているが⁴²⁾、池田⁴³⁾は Et 投与後おこれて起こり持続する肺血管透過性亢進を TxA₂ で説明できないと否定的である。また池田は、PGI₂ の投与が Et による肺血管の透過性亢進を抑制し、PG 合成阻害剤の投与で PGI₂ の増加は抑制され肺の血管透過性亢進が増強することを明らかにした。著者の実験で PGI₂ 投与群では血液ガス分析上、pH、base excess からみて acidosis の程度は軽く、代謝、呼吸面での改善が認められた。GSH 投与群は対照群と変わりなく、改善は認められなかった。また肝の網内系機能の低下につれ肺の網内系での取り込みが増大し、敗血症時の肺における blood-borne particle の取り込みの増大が、敗血症経過中の肺合併症、いわゆる septic lung, adult respiratory distress syndrome の原因のひとつとされている⁴⁴⁾。

Janoff *et al.*⁴⁵⁾がショック動物の血液中にライソゾーム酵素が高濃度に遊離することを報告して以来、ライソゾーム酵素がショックの毒性因子のひとつとして、ショックの重症化や不可逆性の成立に重要な役割を果たすと考えられるようになった。ライソゾーム内には多数の加水分解酵素が存在し、組織の anoxia、嫌気性代謝による acidosis はライソゾームの不安定化をもたらし、ひとたびライソゾーム膜に破綻が生じライソゾーム酵素が細胞内外へ放出されると、細胞機能の障害のみならず遠隔部の臓器をも障害することになる⁴⁶⁾。血中に遊離したライソゾーム酵素は網内系に取り込まれるが⁴⁷⁾、網内系に取り込まれるべき物質が大量に血中に遊離されると網内系を抑制し、この機構がショックによって引き起こされた、細胞、組織障害をより悪化させることになる。Araki and Lifer⁴⁸⁾は、ネコの肝臓を低酸素状態で還流すると、ライソゾーム膜や細胞膜の破壊がおこり、カテプシン D や lactate dehydrogenase (LDH) が還流液中に漏出してくるが、還流液中に PGI₂ を添加するとカテプシン D や LDH の上昇が抑制され細胞の破壊が阻止されること、また carbone clearance でみた phagocytic activity の低下も抑えられたと報告

している。著者は Et による細胞障害の指標として、再現性がよいといわれる β -glucuronidase を測定した結果、Et 投与後時間とともにこの血漿中濃度の増加を認めた。PGI₂ 投与により β -glucuronidase の増加は抑制され、PGI₂ にライソゾーム膜安定化作用のあることが確認された。また GSH の投与群でも β -glucuronidase の増加が抑制され、他の報告¹⁰⁾でも GSH のライソゾーム膜安定化作用を認めており、その理由として臓器過酸化脂質の増加抑制、細胞内の redox state を維持し代謝障害の進行を抑制することなどをあげている。1966 年に Baxter *et al.*⁴⁹⁾ および Brand and Lefer⁵⁰⁾ が別々に熱傷性ショック、出血性ショックで血漿中に心筋の作用を抑制する因子を認め、これを myocardial depressant factor (MDF) と呼んだ。この MDF はショックにおけるライソゾーム膜破壊により瞬より産生され、血中に運ばれ心筋に作用し心機能を抑制するが、ライソゾーム膜の安定化を計ることは、MDF の産生をも阻止することとなる。Lefer *et al.*⁵¹⁾ は外傷性ショックで PGI₂ の投与によりカテプシン D および MDF の上昇抑制をみており、Utsunomiya *et al.*⁵²⁾ も犬の Et ショックで、PGI₂ 投与群は心臓ミトコンドリアが機能、構造面とともに正常に保たれ、心機能が正常に維持されたと報告している。また GSH にも MDF の産生抑制が認められている⁵³⁾。

最近、ショックにおいても生体の防禦能としての網内系機能、特に肝の重要性が認められており、種々のショックで網内系機能が低下して、このことがさらにショックでの有害物質の血中からの除去を遅らせ、複雑な悪循環を形成すると考えられている⁵⁴⁾。網内系機能の低下の機序として、肝血流量の低下⁵⁵⁾、Et の直接作用⁵⁶⁾、opsonin の低下⁵⁷⁾、reticuloendothelial depressing substance (RDS) の産出放出⁵⁸⁾などがあげられている。網内系機能の測定には種々の方法があるが⁵⁹⁾、安全性が高く臨床でも利用可能な lipid emulsion を用い、Et 投与後 120 分での lipid emulsion 血中半減時間を測定し、網内系機能の指標とした。Et 投与により lipid emulsion の血中半減時間は延長し網内系機能の低下が認められたが、PGI₂ および GSH の投与によりその延長が有意に抑制され網内系機能が改善された。ショックでは初期には肝の血流量が低下しその後は回復するが、同時に網内系機能も初期に低下し続いて回復、増強されることから、初期での網内系機能の生体の予備能が重要であるとともに、網内系機能の低下を予防し改善することも重要である。PGI₂ の投与により肝組織血流量の低下が抑制され、網内系機能も改善さ

れたことは、肝血流量の維持ひいては肝の hypoxia の防止が網内系機能を保存維持するための一因子と推定された。また GSH の投与により肝組織血流量の低下の抑制は認められなかったが、網内系は改善されており、前述の網内系機能の低下の原因の阻止に働いたことが示唆された。鈴木ら⁶⁰⁾は出血性ショックで GSH を投与し網内系機能の低下が抑制されたとし、GSH が直接網内系を構成する細胞に対し保護作用を有すると考えた。

合成基質を使用しての血漿 Et 濃度の測定は添加される Et の量によって回収率が 2-80%²⁴⁾と異なるなどの問題もあるが、微量測定ができ測定時間を変えることにより幅広い濃度にわたり測定が可能など⁶¹⁾の利点をそなえている。血漿 Et 濃度は、Et 投与後 120 分までは低下するが、その後は上昇することが認められた。この Et 濃度の上昇は、アイソトープラベルした Et を用いた検討では認められない⁶²⁾ことから、投与した Et 以外の実験に用いた家兎の腸管腔内細菌由来の、いわゆる内因性 Et が関与したものと考えられる。Tamakuma *et al.*⁶³⁾は家兎の上腸間膜動脈結紮ショック時に、血中から高率に内因性 Et を検出し、あらかじめ非吸収性抗生物質で腸内を処置しておくと、その際のショック症状は軽く Et 陽性例も少なくなることを報告している。また傳野⁶⁴⁾はレイウスを作製し、閉塞腸管から直接遊離してくる内因性 Et が腹膜を介して門脈に吸収されることを示唆し、時間の経過とともに血中 Et 濃度が上昇することを報告した。したがってショックにおいては内因性 Et の関与も充分に考慮する必要がある。Woodruff *et al.*⁶⁵⁾は家兎に Et を静注後ステロイドを注入した場合、無処置群に比し血漿 Et 濃度は低く抑えられることを明らかにした。その理由として、ステロイドが Et 投与によるセロトニン、ヒスタミンなどの血管作動物質の遊離を介した腸管の透過性亢進を抑え、腸管腔内 Et の体循環への流入が抑制されること、網内系による血中 Et の取り込みが無処置群より良好に保たれるためとしている。隅田ら⁶⁶⁾や小林²⁴⁾もステロイドの投与により Et 濃度は低く保たれ、生存率を高めることを報告している。PGI₂、GSH の投与により血漿 Et 濃度は非投与群より低い値で低下を続け、しかもその後の上昇が認められなかった。このことは PGI₂、GSH が網内系機能の低下を防ぐことにより、血漿中からの Et 消失を促進するとともに、セロトニン、ヒスタミンなどの血管作動物質による血管の透過性を抑制し、内因性 Et の血中への流入を防いだものと推測される。

5 結 論

家兎を用いて Et ショック時の病態の検討を行ない、特に PGI₂ および GSH の抗ショック作用について次の結果を得た。

1) Et 投与による血漿セロトニン、ヒスタミン濃度は上昇するが、PGI₂ および GSH の投与によりその上昇は抑制された。

2) Et 投与により血漿 β -glucuronidase 濃度は上昇したが、PGI₂ および GSH の投与によりその上昇は抑制され、ライソゾーム膜安定化作用が認められた。

3) 肝組織血流量は Et 投与で約 30% の減少を認め、GSH 投与でもその変化は同様であった。しかし、PGI₂ 投与で肝組織血流量は増加し、Et 投与後減少したがその程度は軽度であった。

4) Et 投与後 120 分での網内系機能は低下するが、PGI₂、GSH 投与でその低下は抑制された。

5) 血漿 Et 濃度は Et 投与後 120 分までは減少するが、その後上昇した。PGI₂、GSH 投与により Et の血漿中からの消失は速められ、後期上昇は認められなかった。

6) PGI₂、GSH 投与により Et ショックでの生存率は、それぞれ 42.9% から 85.7%、40% から 80% へと改善された。

以上の結果より、Et ショック時に PGI₂、GSH を投与すると、chemical mediators の産生を抑制し、かつ網内系機能の低下を抑制し血中からの Et の消失を速め、ショックを軽減するものと推定された。

稿を終るにあたり、ご指導を賜った札幌医科大学外科学第一講座 早坂 滉教授に感謝するとともに、ご校閲をいただきました同麻醉科学講座 高橋長雄教授ならびに同外科第一講座戸塚守夫助教授に謝意を表します。

文 献

- Altemeier, W. A., Todd, J. C. and Inge, W. W.: Gram-negative septicemia: A growing threat. *Ann. Surg.* **166**, 530-542 (1967).
- Levin, J. and Bang, F. B.: The role of endotoxin in the extracellular coagulation of limulus blood. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **115**, 265-274 (1964).
- 早坂 滉: エンドトキシンとショック 胆と膵 **3**, 735-745 (1982).
- Fletcher, J. R., Ramwell, P. W. and Herman, C. M.: Prostaglandins and the hemodynamic course of endotoxin shock. *J. Surg. Res.* **20**, 589-594 (1976).
- Fletcher, J. R., Herman, C. M. and Ramwell, P. W.: Improved survival in endotoxemia with aspirin and indomethacin pretreatment. *Surg. Forum* **27**, 11-12 (1976).
- Wise, W. C., Cook, J. A., Halushka, P. V. and Knapp, D. R.: Protective effects of thromboxane synthetase inhibitors in rats in endotoxin shock. *Circ. Res.* **46**, 854-859 (1980).
- Flynn, J. T. and Lefer, A. M.: Beneficial effects of arachidonic acid during hemorrhagic shock in the dog. *Circ. Res.* **40**, 422-428 (1977).
- Machiedo, G. W., Brown, C. S., Lavigne, J. E. and Rush, B. F. Jr.: Prostaglandin E₁ as a therapeutic agent in hemorrhagic shock. *Surg. Forum* **24**, 12-14 (1973).
- Lefer, A. M., Tabas, J. and Smith, E. A.: Salutary effects of prostacyclin in endotoxin shock. *Pharmacology* **21**, 206-212 (1980).
- 山田晴彦: 還元型グルタチオンの抗ショック作用—Traumatic shock rat の生存率および代謝に及ぼす影響— 麻醉 **26**, 640-645 (1977).
- 小杉 功, 多治見公高, 権田照代, 岡田和夫: ショックに対する還元型グルタチオンと副腎皮質ホルモン剤の効果の比較—第 1 報 エンドトキシンショックに対する前投与と後投与での死亡率からの検討— 麻醉 **30**, 688-693 (1981).
- Bult, H., Beetens, J., Vercruyssen, P. and Herman, A. G.: Blood levels of 6-keto-PGF_{1 α} , the stable metabolite of prostacyclin during endotoxin-induced hypotension. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **236**, 285-286 (1978).
- Higgs, E. A., Moncada, S., Vane, J. M., Michel, H. and Tobelen, G.: Effects of prostacyclin (PGI₂) on platelet adhesion to rabbit arterial subendothelium. *Prostaglandin* **16**, 17-22 (1978).
- Aukland, K., Bower, B. F. and Berliner, M. W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.* **14**, 164-187 (1964).
- Kim, D. K. and Pfeifer, J.: Measurement of phagocytic activity of reticuloendothelial system (RES) by intralipid: Effects of C parvum treatment. *Surg. Forum* **28**, 85-87 (1977).
- Udenfriend, S., Weissbach, H. and Brodie, B. B.: Assay of serotonin and related metabolites, enzymes and drugs. *Method of Biochemical analysis IV*, 95-130, Interscience, New York (1958).
- 佐々木高之輔: アレルギー反応におけるセロトニンの実験的ならびに臨床的研究. アレルギー **15**, 831

- 843 (1966).
18. Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H.: A method for the fluorometric assay for histamine in tissue. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127**, 182-186 (1959).
 19. 大和谷厚, 和田 博: ヒスタミン, 日本生化学会編: 生化学実験講座II, アミノ酸代謝と生体アミン(下), 823-879, 東京化学同人, 東京 (1977).
 20. 鈴木 修: 血漿 Histamine 測定法, Shore 法の改良について. *慶応医学* **50**, 263-270 (1973).
 21. 石戸分豊: β -グルクロニダーゼ(β -GL), *臨床検査* **15**, 1240-1242 (1971).
 22. 安永幸二郎, 大熊 稔, 立川卓男: 血小板算定法の問題点. *臨床検査* **12**, 929-936 (1968).
 23. 原田敏枝, 森田隆司, 岩永貞昭: カプトガニの凝固酵素を用いた内毒素の新しい定量法. *医用酵素* **3**, 43-60 (1978).
 24. 小林謙二: 4-Methylcoumarin amide 合成基質を用いた新しいエンドトキシン定量法の実験的応用. *札幌医誌* **50**, 173-186 (1981).
 25. 吉田昌男: 内毒素に対する各種細胞の応答. *蛋白質核酸酵素 別冊細菌毒素研究* 255-268 (1976).
 26. 近藤元治, 山口恭平, 小玉正智: 免疫の面から. *最新医学* **35**, 481-484 (1980).
 27. Bishop, J. M., Harris, P. and Segel, M.: The circulatory effects of bradykinin in normal subjects and patients with chronic bronchitis. *Brit. J. Pharmacol.* **25**, 456-469 (1965).
 28. McKay, D. G.: Vessel wall and thrombogenic endotoxin. *Thromb. Diath. Haemorrh.* **29**, 11-26 (1973).
 29. Ebata, T. and Hayasaka, H.: Effects of aldosterone and dexamethasone on blood chemical mediators in endotoxin shock. *Jap. J. Surg.* **9**, 79-85 (1979).
 30. 室田誠逸: アラキドン酸カスケード. *医学のあゆみ* **114**, 378-385 (1980).
 31. Des Prez, D. M., Horowitz, H. I. and Hook, E. W.: Effects of bacterial endotoxin on rabbit platelet. I. Platelet aggregation and release of platelet factor *in vitro*. *J. Exp. Med.* **114**, 857-873 (1961).
 32. 島本多喜雄, 小西藤治: 細菌内毒素による血小板侵襲およびセロトニンの血中放出の発見とその臨床的意義. *日本臨床* **16**, 1087-1100 (1958).
 33. Schayer, R. W.: Relationship of induced histamine decarboxylase activity and histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin. *Am. J. Physiol.* **198**, 1187-1192 (1960).
 34. Cuevas, P. and Fine, J.: Production of fatal endotoxin shock by vasoactive substances. *Gastroenterology* **64**, 285-291 (1973).
 35. 北村 諭, 石原陽子, 和泉孝志, 杉山幸比古, 林隆司郎, 許 榮宏: ヒスタミン, SRS-A の放出におよぼす諸種プロスタグランディンの効果について. *日胸疾会誌* **18**, 447-452 (1980).
 36. 渡邊千之: エンドトキシンショック発現に関与する免疫学的機序の研究. *日外会誌* **81**, 365-380 (1980).
 37. 鹿取 信: Chemical mediators とくにキニン系関与の可能性. *脈管学* **18**, 935-939 (1978).
 38. 原口正光, 山田晴彦, 吉村 望: 脱血性ショック時の血小板機能に及ぼす還元型グルタチオンの影響. *術後代謝研究会誌* **14**, 55-59 (1980).
 39. 松倉裕美, 竹田治士, 川上敏晃, 田辺達三: 体外循環におけるプロスタグランディン I_2 の効果—実験的検討— *日胸外会誌* **30**, 164-171 (1982).
 40. 崎尾秀影, 松崎義和, Said, S. L.: Release of prostacyclin during hypoxic ventilation. *医学のあゆみ* **109**, 561-562 (1979).
 41. 宮沢輝巨, 平本光英, 小早川隆, 有田健一, 平本雄彦, 西田修実, 西本幸男: 実験肺水腫におよぼすプロスタグランディン I_2 の効果—とくにガス交換の面より. *医学のあゆみ* **118**, 418-421 (1982).
 42. Fletcher, J. R., Ramwell, K. W. and Harris, R. H.: Thromboxane, prostacyclin, and hemodynamic events in primate endotoxin shock. *Adv. Shock Res.* **5**, 143-148 (1981).
 43. 池田東吾: エンドトキシン・ショックにおける肺血管透過性に及ぼすプロスタグランディン I_2 の影響に関する研究. *福岡医誌* **72**, 71-81 (1981).
 44. 平澤博之, 田畑陽一郎, 大川昌権, 添田耕司, 小高通夫, 佐藤 博: ATP-MgCl₂ および glucose 投与による sepsis の治療—特に肝細胞内 ATP level および細網内皮系機能の変化を中心に— *日外会誌* **80**, 164-172 (1979).
 45. Janoff, A., Weissman, G., Zweifach, R. W. and Thomas, L.: Pathogenesis of experimental shock IV. Studies of lysosomes in normal and tolerant animals subjected to trauma and endotoxemia. *J. Exp. Med.* **116**, 451-466 (1962).
 46. 小川 龍: ライソゾーム 酵素. *救急医学* **5**, 271-280 (1981).
 47. Schleginger, P., Rodman, J. S. and Frey, M.: Clearance of lysosomal hydrolases following intravenous infusion. The role of liver in the clearance of β -glucuronidase and N-acetyl-D-glucosaminidase. *Arch. Biochem. Biophys.* **177**, 606-614 (1976).
 48. Araki, H. and Lefer, A. M.: Cytoprotective actions of prostacyclin during hypoxia in the

- isolated perfused cat liver. *Am. J. Physiol.* **238**, H176-H181 (1980).
49. Baxter, C. R., Cook, W. A. and Shires, G. T.: Serum myocardial depressant factor of burn shock. *Surg. Forum* **17**, 1-2 (1966).
 50. Brand, E. D. and Lefer, A. M.: Myocardial depressant factor in plasma from cats in irreversible post-oligemic shock. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **122**, 200-203 (1966).
 51. Lefer, A. M., Sollott, S. L. and Galvin, M. J.: Beneficial actions of prostacyclin in traumatic shock. *Prostaglandin* **17**, 761-767 (1979).
 52. Utsunomiya, T., Krausy, M. M., Shepro, D. and Hechtman, H. B.: Myocardial protection with prostacyclin after lethal endotoxemia. *Surgery* **92**, 101-108 (1982).
 53. 小杉 功, 山口佳晴, 岡田和夫, 印南比呂志, 川島康男, 吉川秀康: MDFに関する知見-MDFの産生部位を中心に- *臨床麻酔* **1**, 27-31 (1974).
 54. Saba, T. M.: Reticuloendothelial systemic host defence after surgery and traumatic shock. *Circ. Shock* **2**, 91-108 (1975).
 55. Holper, K., Olcay, I., Kitahama, A., Miller, R. H., Brettschneider, L., Drapanas, T., Trejo, R. A. and Di Luzio, R.: Effect of ischemia on hepatic parenchymal and reticuloendothelial function in the baboon. *Surgery* **76**, 423-432 (1974).
 56. 緒方博丸, 松本 勅, 塚原英之, 金 七龍: エンドトキシンの網内系の補食能に及ぼす影響. *救急医学* **5**, 1043-1047 (1981).
 57. Kaplan, J. E. and Saba, T. M.: α -2-glycoprotein opsonic deficiency after trauma. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **156**, 14-18 (1977).
 58. Blattberg, B. and Levy, M. N.: Detection of reticuloendothelial depressing substance in shock. *Am. J. Physiol.* **209**, 71-74 (1965).
 59. 小島 瑞, 山口昭彦, 土橋陸夫: 網内系機能検査法. *日本臨床* **26**, 419-432 (1968).
 60. 鈴木 中, 小川 龍, 藤田達二: 出血性ショック時の細網内皮系機能に及ぼす還元型グルチオンの効果. *麻酔* **29**, 212-216 (1980).
 61. 丹羽 充: エンドトキシン定量の諸問題 *最新医学* **35**, 497-501 (1980).
 62. Chedid, L., Skarness, R. C. and Parant, M.: Characterization of a Cr⁵¹-labeled endotoxin and its identification in plasma and urine after parenteral administration. *J. Exp. Med.* **177**, 561-571 (1963).
 63. Tamakuma, S., Rojas-Corona, R., Cuevas, P. and Fine, J.: Demonstration of a lethal endotoxemia of intestinal origin in refractory non-septic shock. *Ann. Surg.* **173**, 219-224 (1971).
 64. 傳野隆一: 腸閉塞の病態に関する実験的研究. *札幌医誌* **51**, 43-58 (1982).
 65. Woodruff, P., Caridis, D., Cuevas, P., Koizumi, S. and Fine, J.: Corticosteroid treatment of major trauma. *Arch. Surg.* **107**, 613-616 (1973).
 66. 隅田幸男, 八木博司, 植田英彦: ショック治療における副腎皮質ホルモン, 特にMethylprednisolone (Solu-Medrol) の大量投与に関する一考察. *基礎と臨床* **11**, 239-250 (1977).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学外科学第1講座 後藤幸夫