

氏 名 (本籍)                    や            じま            よし            あき  
   矢            島            義            昭

学 位 の 種 類                    医            学            博            士

学 位 記 番 号                    医            第            1 8 0 0            号

学 位 授 与 年 月 日                昭 和   6 1   年   2   月   2 6   日

学 位 授 与 の 要 件                学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴                        昭 和 5 1 年 3 月  
   東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目                    合 成 発 色 基 質 を 用 いた 血 中 エ ン ド ト キ シ ン 測 定 法  
   の 臨 床 応 用 と 肝 疾 患 に お け る エ ン ド キ シ ン 血 症 の  
   臨 床 的 意 義 に つ い て

(主 査)

論 文 審 査 委 員   教 授 後 藤 由 夫   教 授 佐 藤 寿 雄

教 授 石 森            章

## 論文内容要旨

1970年にLevinらは、家兎発熱試験に代わる新しい血中エンドトキシン(Et)検出法であるリムルステストを報告した。以来、本法を用いて敗血症、肝疾患等において多くの報告がみられる。しかし、報告された成績は必ずしも一致しておらず、現在においてもなお混乱が続いている。なかでも、肝硬変において高率にEt血症がみられるとする多羅尾ら(1977年)とこれに否定的なFulenwiderら(1980年)の対立は決定的であった。

リムルステストにおいては、ゲル化の有無を肉眼で判定するために主観が入りやすく、又、従来より用いられてきた前処理法であるクロロホルム法とCooperstock法に原則的な問題点も指摘された。1978年に岩永らは、Etによるlimulus lysateのゲル化の機序を解明し、limulus lysate中にBoc-Leu-Gly-Arg-pNAのような合成発色基質を添加することによってEt活性を比色定量する合成基質法(Limulus Colorimetric Test: LCT)を提唱した。その後田村らは、合成基質法のための前処理法として過塩素酸(PCA)法を提唱した。本研究の目的は、この岩永、田村らによって開発された新しい血中Etの定量法(PCA-LCT)を用いて、肝疾患における血中及び腹水中のEtを測定し、その臨床的意義を明らかにすることである。

### 対象および方法

過去3年間に当科の外来または病棟で、血中Etの測定をおこなった164名の肝疾患患者と健康者20名を対象とした。血中Etの測定は、市販のPCA-LCTキットである生化学工業製のトキシカラートを用いた。従来のリムルスゲル化法(LGT)を用いる場合にはCooperstock法(蒸留水で検体を3倍に希釈した後に100°C・10分間の加熱)で前処理をおこなった(以下Cooperstock-LGTと略す)。用いた標準EtはE. coli 0111-B4(Difco)であり、その1ng/mlはUSP reference endotoxinであるE. coli 0113の2.9 endotoxin unitに相当する。

### 結 果

血漿へ標準Etを添加した場合のPCA-LCTによる回収率は約90%であり、この回収率は血漿中のビリルビン濃度によっても影響されなかった。PCA-LCTの精度については、アッセイ内、アッセイ間の変動係数はそれぞれ5.7%、11%であった。正常域は健康者の測定値のMean ± 3SDより5 pg/ml以下とした。従来のCooperstock-LGTの検出感度は、臨床検体を用いたPCA-LCTとの比較より20-40 pg/mlと推定された。LGTの蒸留水中のEt検出感度が1 ng/mlであったので、Cooperstock法による前処理過程にlimulus lysateのゲル化を促進する機序が

推定された。しかし、Cooperstock-LGTにおいては、incubation時間の延長に伴って偽陽性反応が認められた。

肝疾患においては、慢性肝炎、代償性肝硬変、及び腹水を伴わない肝細胞癌では全例血中Etは陰性であった。腹水を伴う非代償性肝硬変においては52%の症例において軽度のEt血症が検出された。しかし、従来の報告に反して腹水中には全くEtを検出できなかった。急性肝炎、肝硬変を問わず、DICや腎不全を合併する肝不全状態においては高率に、かつ高度のEt血症が出現し、そのような症例は一般に予後不良であった。肝細胞癌の場合も肝硬変におけると同様に、肝不全の進行に伴ってEt血症が出現した。担癌状態そのものはEt血症の成立に関与しないものと考えられた。

## 考 案

PCA-LCTを用いた今日の検討では、DICや腎不全の出現する肝不全状態と、腹水のみられる非代償期においてEt血症が認められた。DIC合併例では一般に血中Et値は高値を示し、多くの症例が50 pg/ml以上に位置した。非代償期の血中Et値は大部分の症例が5-10 pg/mlの範囲に分布した。この範囲のEt値は従来のCooperstock-LGTでは検出不能の領域であり、この測定法を用いたFulenwiderらが非代償性肝硬変の血中Etの検出に失敗したのは当然のことである。むしろ、代償性肝硬変や慢性活動性肝炎にEt血症を報告している多羅尾ら、Liehrらの成績については測定系への汚染や、不適当な前処理法を用いたための偽陽性反応等を原因として考えざるをえない。

非代償期における腹水の出現、肝不全状態におけるDICや腎不全の合併とEt血症との間には密接な関係が認められたが、Et血症が果してこれらの病態の原因なのか、あるいは単なる随伴現象にすぎないのか、目下のところ不明である。

今回の実験的かつ臨床検討より、PCA-LCTは肝疾患におけるEt血症を研究する上で信頼にたる測定法であることが示された。本法を用いた今後の研究によって、肝疾患におけるEt血症をめぐる混乱が收拾され、肝疾患におけるEt血症の臨床的意義が明らかにされるものと思われる。

## 審査結果の要旨

感染症や肝疾患における血中エンドトキシンの動態については多くの関心が寄せられているが、その成績は必ずしも一定していない。この研究は血中エンドトキシンの測定法を検討し、各種疾患時の血中動態を解明するために行われたものである。

方法としては、合成発色基質（Boc-Leu-Gly-Arg-pNA）を用いた定量的なリムルステスト（Limulus Colorimetric Test : LCT）を用い、主として肝疾患におけるエンドトキシン血症について検討した。対象は当科入院の肝疾患患者164名と健常者20名である。血漿検体は過塩素酸（PCA）で除蛋白した後に、LCTでエンドトキシン活性を定量した（以下、PCA-LCT法と略）。血漿へ標準エンドトキシンを添加した場合のPCA-LCT法による回収率は約90%であり、この回収率は血漿中のビリルビン濃度によって影響されなかった。PCT-LCT法の精度については、アッセイ内、アッセイ間の変動係数はそれぞれ4.4%、11%であった。正常域は健常者の測定値のM±3SDより5 pg/ml 以下とした。従来のリムルスゲル化法の検出感度は、臨床検体を用いたPCA-LCT法との比較により20-40pg/ml と推定された。しかし、リムルスゲル化法においては incubation 時間の延長に伴って偽陽性反応が認められた。肝疾患においては、慢性肝炎、代償性肝硬変、及び腹水を伴わない肝細胞癌では全例血中エンドトキシンは陰性であった。腹水を伴う非代償性肝硬変においては52%の症例において軽度のエンドトキシン血症が検出された。しかし、従来の報告に反して腹水中には全くエンドトキシンを検出できなかった。急性肝炎、肝硬変を問わず、DICや腎不全を合併する肝不全状態においては高率にかつ高度のエンドトキシン血症が出現し、そのような症例は予後不良であった。肝細胞癌の場合も肝硬変におけると同様に、肝不全の進行に伴ってエンドトキシン血症が出現した。担癌状態そのものはエンドトキシン血症の成立に関与しないものと考えられる、としている。

この研究は肝疾患の非代償期における腹水の出現、肝不全状態におけるDICや腎不全の合併とエンドトキシン血症の間には密接な関係のあることを明かにし、血中エンドトキシン測定の臨床的意義を確立したものであり学位授与に値する。