

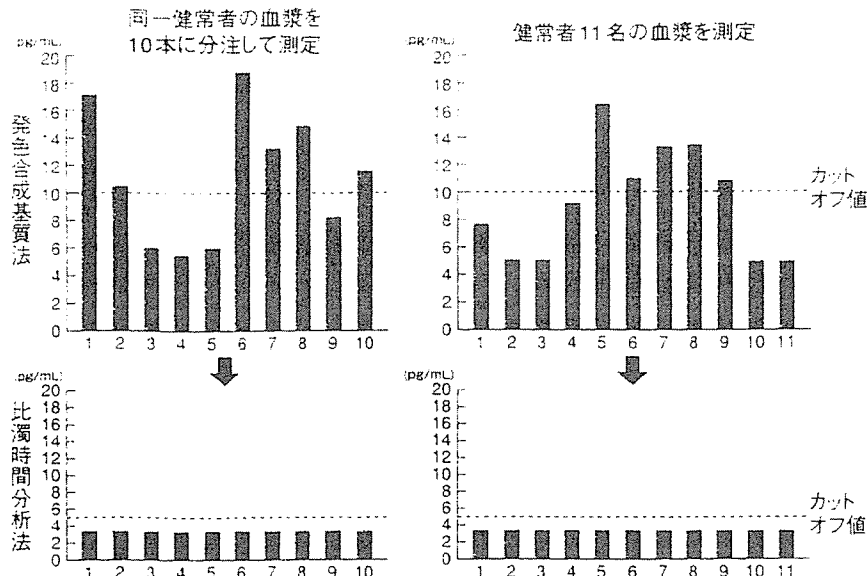


図2 健康者検体の発色合成基質法と比濁時間分析法の比較

発色合成基質法においてはしばしば偽陽性が見られる。このときの発色合成基質法のカットオフ値は9.8 pg/ml、比濁時間分析法のカットオフ値は5pg/mlであった。

b. 発色合成基質法

発色合成基質法は、凝固酵素の基質として合成発色基質を用い吸光度測定する方法である。日本産カブトガニ *Tachypleus tridentatus* のライセート内に、合成発色基質 boc-leu-gly-arg-pNA を加える。リムルス反応で生じた酵素活性により切断されて生じた pNA を、最大吸収を示す 405nm (黄色) の吸光度を測定するか、pNA をジアゾカップリングして 450nm (赤色) の吸光度を測定するエンドポイント法を当初採用していた (生化学工業)³⁾。そして、マイクロプレートを用いたカインティック法 (微量の血漿をウェル内に添加し、処理から主反応までウェル内で行う) もある⁴⁾。この方法は、ジアゾカップリング・エンドポイント法の欠点である pNA 類似構造物 (サルファ剤) などの血漿を偽陽性反応に対して改良されている⁶⁾。

c. 比濁時間分析法

これは、ゲル化に伴う濁度を透視光量値の変化として捉えて定量化している。市販のものには比濁時間分析法キット (和光純薬工業) がある。専用の機器 (トキシノメーター) を用いて行い、ライセートと混合した反応液の透過光量比が、ある一定の値 (5% 前後) まで減少するまでの反応時間をゲル化時間とし、標準エンドトキシンのゲル化時間から作成した標準曲線を用いてエンドトキシン値を算出する方法⁵⁾である。なお、このキットでは過剰量のグルカンを加えて G 因子の活性化を抑制することでエンドトキシン特異的にしてある⁷⁾。

3. 測定上の注意および問題点 (濁度発生による偽陽性に注意する)

リムルステストの反応は前述したように C 因子への LPS の結合、C 因子の活性化、B 因子の活性化、凝固酵素の活性化、コアグュリン (または pNA) の生成と、数段階の活性化を経てゲル化 (濁度変化) や黄色色素生成がおこる。従って、最終反応までにはラグタイムが必ずみられる。発色合成基質法や比濁時間分析法のいずれでも、反応を肉眼的に観察できる。もし、反応早期から濁度変化や 405nm 吸光度の上昇が見られる場合には非特異的な濁度が発生している可能性が高く、測定値は評価に留保すべきである。アルカリ処理法の場合、血漿などでは偽陽性を発生することがあり⁸⁾、実用には不都合があった (図2)。

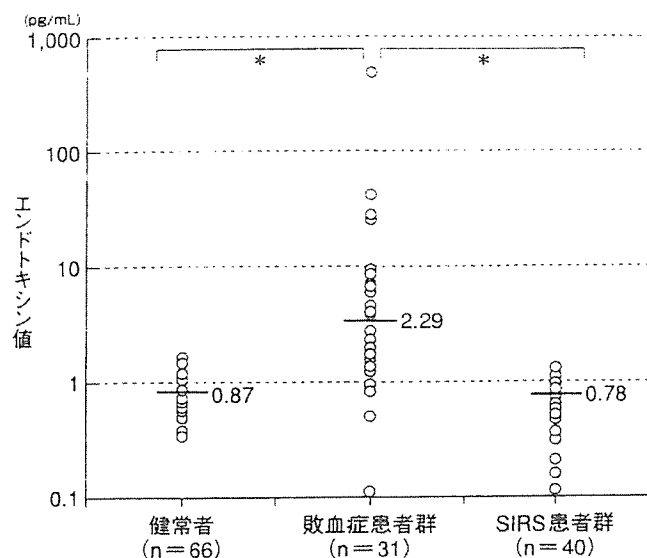


図3 敗血症におけるエンドトキシン値

敗血症におけるエンドトキシン値は感染を伴わないSIRS患者、健康者に対して有意に高値となる。

* $p < 0.001$ (Mann-Whitney U test with Bonferroni correction)

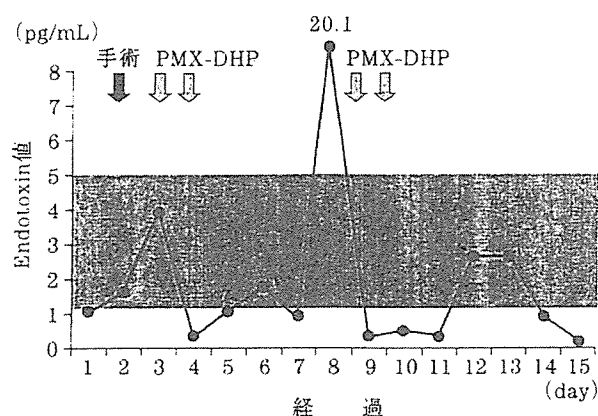


図4 症例1

交通事故による肝損傷術後にエンドトキシン値が上昇し、PMX-DHPを施行し正常化した。その後肝膿瘍形成し再びエンドトキシン値が上昇し再度PMX-DHPを施行しエンドトキシン値は正常化した。

4. 高感度エンドトキシン測定法

比濁時間分析法はトキシノメーターを用いて、検体とカプトガニ血球から調整されたリムルス試薬を混和させた溶液のゲル化時間（リムルス反応）を測定する方法である。これには、リムルス反応を利用しているため特異度は非常に高い一方で、感度に関しては測定時間が短いと低下することや、試薬によりばらつきがでるという弱点があった。これまでのエンドトキシンのカットオフ値は、特異度と測定時間の短縮を重視し、3.5～5pg/mlに設定されることが多く、感度が低いという問題があった(図3)。

NT-251型のトキシノメーターにおいては、カプトガニライセートのゲル化時間を999分まで観察可能であり、理論的には0.01pg/mlまでのエンドトキシン濃度が測定できる。結果が出るまでの時間が短いことは実際の臨床に役立つ検査としては必須である。そこで測定時間を200分とすることにより、0.1pg/mlまで測定することができた。本法により、敗血症診断にけるエンドトキシン値の最適カットオフ値は1.1pg/mlとした。これによると敗血症診断における感度は81.3%、特異度は86.1%となり、従前のカットオフ値を5.0pg/mlに想定した場合に比べてその感度は3倍以上になった⁹⁾。これまでマスクされていた1.1～5pg/mlのエンドトキシン血症症例に対して、エンドトキシンをターゲットとして治療を行うことにより、著明な臨床効果が得られることは、エンドトキシン高感度測定法の位置づけにおいて臨床に非常に重要であることを示唆するものである(図4)¹⁰⁾。

本法は、エンドトキシン測定法としては現時点においてはゴールドスタンダードであると思われる、既に一部の臨床検査会社でも採用している。しかし、実際の測定に際しては、採血後室温で長時間放置することなく、なるべく早期に血漿を分離し低温保存しておくことが重要である。

5. 血中エンドトキシン値が陽性である意味

臨床症例において血中エンドトキシンが陽性であることの意味は、

- 1) グラム陰性菌が血中に侵入したとき、
- 2) 感染後期あるいは抗生物質治療で血中の菌は死んでエンドトキシンのみが存在している、
- 3) 1)、2) の両者が共存している場合、
- 4) 局所感染があって死菌由来のエンドトキシンが流血中に出現している時、
- 5) 腸管由来のエンドトキシン(あるいはグラム陰性菌が何等かの原因で透過性亢進が起こって流血中に出現した時

の何れかが考えられる。1～4) はいわゆる外因性エンドトキシン血症といえるし、5) は内因性エンドトキシン血症である。5) の腸管からの細菌ないしエンドトキシンの血中への移行については非常に興味をもたれるが未だに議論のあるところである。これがいわゆるバクテリアルトランスロケーションである。エンドトキシンが感染菌由来なのか(あるいは菌自身なのか)、腸管由来なのかは議論のあるところであろう。しかし、我々は多く場合は血中においてエンドトキシン値が陽性であることはグラム陰性菌敗血症、あるいは体のどこか局所で感染症が起こっていることを意味していると考えている。

6. おわりに

臨床において、血中のエンドトキシン値が陽性であることは、即治療に直結するものであることから、エンドトキシン非特異的な測定法により得られたエンドトキシン値を採用し、議論することの危険性を強調したい。エンドトキシン測定に関しては、白血球分画のエンドトキシン測定法という新しい測定法の開発も進んでおり今後新たな局面を迎えるであろう。

文 献

1. Levin J and Bang F B : The role of endotoxin in the extracellular coagulation of Limulus blood, Bull Johns Hopkins Hosp 115: 265-274, 1976
2. Iwanaga S, Morita T, et al : Chromogenic substances for horseshoe crab clotting enzyme. Its application for the assay of bacterial endotoxins. Haemostasis 7: 183-188, 1978
3. Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, et al : A new chromogenic endotoxin-specific assay using recombinated limulus coagulation enzymes and its clinical applications. Clin Chim Acta 149: 55-65, 1985
4. Tamura H, Arimoto Y, Tanaka S, et al : Automated kinetic assay for endotoxin and (1 → 3)- β -D-glucan in human blood. Clin Chim Acta 226: 109-112, 1994
5. Oishi H, Takaoka A, Hatayama Y, et al : Automated Limulus amoebocyte lysate (LAL) test for endotoxin assay using a new Toxinometer ET-201. J Parenter Sci Technol 39: 194-200, 1981
6. 稲田捷也、遠藤重厚、吉田昌男 : エンドトキシン血症迅速診断のための新しい血漿前処理法の開発、病態生理 12: 381-389, 1993
7. Kakinuma A, Asano T, et al : Gelation of limulus amoebocyte lysate by an antitumor (1, 3)- β -D-glucan. Biochem Biophys Res Commun 101: 434-439, 1981
8. 稲田捷也、遠藤重厚 : リムルス試薬を用いた血中エンドトキシンおよび β -グルカン定量におけるカイネティック法での特異反応と非特異反応の判別 医学と薬学 42: 885-897, 1999
9. 八重樫泰法、稲田捷也、佐藤信博、他. 血漿高感度エンドトキシン測定法について. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 7: 25-28, 2003
10. 遠藤重厚、八重樫泰法、佐藤信博、他. PMX 治療効果の検討 —高感度エンドトキシン測定法を用いた検討—. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 8: 79-83, 2004

I 病 態

敗 血 症

Sepsis

遠藤 重厚* 佐藤 信博**

Shigeatsu Endo and Nobuhiro Sato

◆key words：敗血症，診断基準，重症度判定

はじめに

重症度がさまざまに異なる敗血性炎症の早期診断は，特異的治療の早期実施のため重要である。敗血症と重症敗血症では全身性炎症の臨床的および検査的徴候が伴って起こるが，非感染性炎症の症例も類似した徴候と症状を示すことがあり，臨床所見のみに基づいて感染を診断することは難しい。細菌培養の結果を得るまで時間を要し，また敗血症の臨床徴候と同時に現れないこともある。従って，敗血症と臓器機能障害の早期診断を可能とし，早期の特異的治療介入が可能となるようなマーカーを同定することが重要である。敗血症における重症度を簡素化した一定の基準でとらえることにより，治療開始の時期の決定あるいは治療成績の評価を客観的に行う目的でこれまでいくつかの基準がつくられてきた。しかし，いまだ統一された基準がないのが現状ではあるが，ここでは比較的一般的な敗血症の基準について述べたい。

sepsis score

Elebute と Stoner が sepsis における一般的に観察される生体反応を簡素化しグレード化したものである¹⁾。これは，感染の部位，体温，敗血症による二次的生体反応，検査データの4点から病態を観察しこれらをそれぞれスコア化して，合算することによって重症度を評価している（表1）。

Domanioni らは，135例の敗血症症例を分析して，スコアが20を超えると死亡率は92%，30を超えると100%と報告している²⁾。

Stevens の SSS (septic severity score)

Stevens が外科疾患における敗血症の合併症を，7つの重要臓器の機能について理学的所見あるいは検査成績より評価し，これらをスコア化し，合算して重症度を評価している（表2）³⁾。このスコアについては臓器障害の進行程度を示したものと考えられる。重症度を表現する方法としては現実的なものである。本基準は，新しい治療法を確立する場合に，対象となる患者の重症度を均一化する，患者に対してさらにデブリードマンやドレナージが必要か，敗血症を呈した患者をいつICUに移すか，あるいはいつICUから一般病棟へ移すか，抗生物質の投与量は適切かなどの指標となるべく作られたものである。

本基準は比較的短時間で算定することが可能である。

Skau の SSS (septic severity score)

腹腔内に重症な感染を有する患者を，急性の生理学的所見と重要臓器の重症度をスコア化して病態とのかかわりについて評価する基準である。Stevens の SSS の判定項目において，その診断基準が抽象的表現となっている項目についてより具体的に数値化し，判定しやすいように改変したものである（表3）⁴⁾。本基準は Stevens の SSS に比して煩雑である。

SIRS

1991年非感染性の全身の炎症反応も考慮して，アメリカ胸部疾患学会と集中治療学会の合同コンセンサス委員会はこれまでの用語を統廃合して SIRS

* 岩手医科大学医学部救急医学教授 ** 同講師

表 1 Elebute and Stoner の sepsis score

ファクター	スコア	ファクター	スコア
I 感染の局所所見		III 敗血症の全身所見	
排膿/消化管皮膚瘻を伴う創感染		明らかな黄疸 (肝胆道疾患がない)	2
1 日 1 回以下の簡単な包帯交換を要する	2	代謝性アシドーシス	
1 日 1 回以上の包帯交換, 吸引/バッグを要する	4	代償性	1
腹膜炎		非代償性	2
限局性腹膜炎	2	腎不全	3
汎発性腹膜炎	4	見当識喪失/せん妄・昏睡/敗血症性神経症状	3
肺感染症		出血傾向 (汎発性血管内血液凝固症候群)	3
喀痰を伴わない臨床的ないし X 線の肺感染	2	IV 血液検査所見	
膿性喀痰を伴う臨床的ないし X 線の肺感染	4	血液培養	
大肺葉性肺炎/気管支肺炎	6	1 回のみ陽性	1
深部膿瘍		24 時間内に 2 回以上陽性	3
横隔膜下膿瘍, 骨盤膿瘍, 膿胸,	6	1 回のみ陽性+侵襲的操作の既往	3
慢性/急性骨髓炎		1 回のみ陽性+心雑音/圧痛のある脾腫	3
II 発熱 (口腔内体温)		白血球数 ($\times 10^9/l$)	
最高体温 ($^{\circ}C$)		12~30	1
37.5~38.4	1	>30	2
38.5~39	2	<2.5	3
>39	3	出血のないときのヘモグロビン値 (g/dl)	
<36	3	7~10	1
スコア追加		<7	2
最低体温 >37.5	1	血小板数 ($\times 10^9/l$)	
1 日に 38.4 $^{\circ}C$ 以上のピークが 2 回以上	1	100~150	1
悪寒	1	<100	2
		血清アルブミン値 (g/l)	
		31~35	1
		25~30	2
		25>	3
		非顕性黄疸時の血清ビリルビン値	
		>25 μ mol/l	1

表 2 Stevens の septic severity score (SSS)

臓器・系	臓器・系障害の程度				
	点 数				
	1	2	3	4	5
肺	マスク O ₂	挿管; no PEEP	PEEP 0~10%	PEEP>10% Po ₂ >50mmHg	最高 PEEP; Po ₂ <50mmHg
腎	CL 1.5~2.5mg/dl	CL 2.6~3.5mg/dl	CL>3.6mg/dl 適切な尿量	CL>3.6mg/dl 尿量 30~50ml/hr	CL>3.6mg/dl 尿量 20ml/hr
凝固系	皮下出血; PT, PTT および血小板数正常	PTT 45~65s PT 12~14s	血小板 2 万~10万/mm ³ PTT>50s PT>14s	血小板 2 万/mm ³ PT と PTT 延長	FSP と euglobin の 増加, 出血
循環器系	低血圧軽度	チアノーゼ; 低血圧中等度	血管収縮薬中等度	血管収縮薬大量	血管収縮薬投与にも かかわらず低血圧著明
肝	LDH と SGOT の増加 ビリルビン正常	ビリルビン 1.5~2.5mg/dl	ビリルビン 2.6~4.0mg/dl	ビリルビン 4.1~8.0mg/dl	プレコマービリルビン >8.0mg/dl
消化管	イレウス軽度	イレウス中等度	イレウス高度	急性胃炎による出血	腸間膜静脈血栓
神経系	不活発	見当識喪失	無分別	反応低下	昏睡

表3 Skau の septic severity score (SSS)

臓器・系	臓器・系障害の程度				
	点 数				
	+ 1	+ 2	+ 3	+ 4	+ 5
肺 (PO_2 ; kPa)	マスク O_2	挿管 ; no PEEP	PEEP 0~10cmH ₂ O	>6.65 (PEEP>10cmH ₂ O)	<6.65 (PEEP>10cmH ₂ O)
腎 (serum creatinine ; μ mol/l)	130~220	221~310	>310	>310 (尿量 20~50ml/hr)	>310 (尿量<20ml/hr or <500ml/24hr)
循環器系 (平均 BP= [2 diastolic +systolic] /3 ; mmHg)	75~70	<70	ドバミン < 5 μ g/kg/min	ドバミン > 5 μ g/kg/min	ドバミン投与にもか かわらず血圧低下
凝固系 (血小板 ; $\times 10^4$ /l)	皮下出血	APTT 45~65s	100~20 (APTT>65s)	<20	FSP 増加, 出血
肝 (ビリルビン ; μ mol/l)	正常 (ALAT, ASAT or LDH 増加)	25~44	45~74	75~134	ブレイクマ>135
消化管	イレウス軽度 (500~1000ml 胃チューブ排液)	イレウス中等度 (1000~2000ml 胃チューブ排液)	イレウス高度 (>2000ml 胃チューブ排液)	出血性胃炎	腸間膜血栓症
神経系	不活発	見当識喪失	無分別	反応低下	昏睡

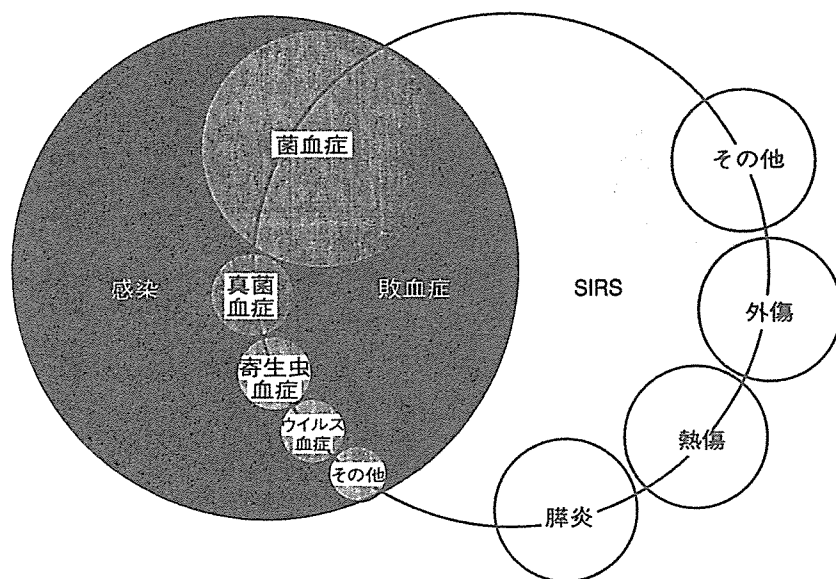


図1 SIRS, 敗血症と感染の相互関係

(systemic inflammatory response syndrome) と呼ぶ新しい診断基準を提唱した (図1, 表4)⁵⁾⁶⁾。これによると体温, 心拍数, 呼吸数 (または $PaCO_2$), 白血球数というもっとも生体の基本的な反応のうち

2つ以上の値の異常から SIRS としている。sepsis syndrome では従来の敗血症, 菌血症などの用語との使い分けが曖昧だったが, 新しい基準では敗血症を SIRS のうち感染が明らかで, 全身反応のある場

表 4 敗血症と臓器不全の定義

- ・ 感染 (infection)
微生物の存在ないし微生物の本来無菌の宿主組織への侵襲に対する炎症反応によって特徴づけられる微生物現象
- ・ 菌血症 (bacteremia)
血液中の生菌の存在
- ・ 全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome ; SIRS)
種々の重篤な臨床的侵襲に対する全身性の炎症反応。この反応は以下の 2 つないしそれ以上の項目により明らかにされる
(1) 体温 $>38^{\circ}\text{C}$ ないし $<36^{\circ}\text{C}$ (2) 心拍数 $>90/\text{min}$
(3) 呼吸数 $>20/\text{min}$ ないし $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$
(4) 白血球数 $>12000/\mu\text{l}$, $<4000/\mu\text{l}$, ないし桿状核好中球 $>10\%$
- ・ 敗血症 (sepsis)
感染に対する全身性反応。感染の結果として以下の 2 つないしそれ以上の項目により明らかにされる
(1) 体温 $>38^{\circ}\text{C}$ ないし $<36^{\circ}\text{C}$ (2) 心拍数 $>90/\text{min}$
(3) 呼吸数 $>20/\text{min}$ ないし $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$
(4) 白血球数 $>12000/\mu\text{l}$, $<4000/\mu\text{l}$, ないし桿状核好中球 $>10\%$
- ・ 重症敗血症 (severe sepsis)
臓器機能障害, 低灌流, あるいは低血圧を伴う敗血症。低灌流と灌流異常は乳酸アシドーシス, 乏尿, ないし精神状態の急性変化を含むが, これだけに限定されない
- ・ 敗血症性ショック (septic shock)
乳酸アシドーシス, 乏尿, 精神状態の急性変化を含むが, これだけに限定されない灌流異常の存在を伴って適切な輸液に反応しない敗血症起因性低血圧。強心薬ないし昇圧薬を投与されている患者は灌流異常をみても低血圧を示さないことがある
- ・ 敗血症起因性低血圧 (septic-induced hypotension)
他に低血圧をきたす原因が見あたらない場合の収縮期血圧 $<90\text{mmHg}$ ないし基準となる血圧から $>40\text{mmHg}$ の低下
- ・ 多臓器機能障害症候群 (multiple organ dysfunction syndrome ; MODS)
急性疾患患者において無治療では恒常性を維持しえないほどの臓器機能の変化の存在

合と明確に定義している。そして従来使い分けの難しかった sepsis と septicemia の一方の septicemia を使わないように提案している。

この基準に従えば、血液以外でも起因菌が証明され、全身反応についての基準が満たされれば敗血症と定義される。すなわち、血液培養が陰性でも、あるいは実際に菌が血中に存在しなかった場合でも敗血症と診断されるわけである。

おわりに

敗血症のような複雑な病態を、一定の敗血症診断基準にあてはめることは困難であり、いまだ確立したものがないのが現状である。治療成績などを評価する観点からも敗血症の診断基準の確立は望まれるが、今後さまざまな要因が加味されて変遷していくものと思われる。

【文 献】

- 1) Elebute EA, Stoner HB : The grading of sepsis. Br J Surg 70 : 29-31, 1983.
- 2) Domanioni L, Dionigi R, Zanella M, et al : Sepsis score and acute-phase protein response as predictors of outcome in septic surgical patients. Arch Surg 122 : 141-146, 1987.
- 3) Stevens LE : Gauging the severity of surgical sepsis. Arch Surg 118 : 1190-1192, 1983.
- 4) Skau T, Nystrom PO, Carlsson C : Severity of illness in intra-abdominal infection. Arch Surg 120 : 152-158, 1985.
- 5) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee : Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 20 : 864-874, 1992.
- 6) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee : Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Chest 101 : 1644-1655, 1992.

敗血症と生体反応(12)

遠藤 重厚*
Shigeatsu Endo

佐藤 信博*
Nobuhiro Sato

八重樫泰法*
Yasunori Yaegashi

塩谷 信貴*
Nobutaka Shiotani

真壁 秀幸*
Hideyuki Makabe

高橋 学*
Gaku Takahashi

森 潔史*
Kiyofumi Mori

北村 道彦**
Michihiko Kitamura

要 旨

敗血症は急性呼吸障害の最も一般的な原因である。感染により活性化された炎症細胞は、IL-8やplatelet activating factor (PAF) などの好中球活性化因子を放出し、これらにより活性化された好中球上のMac-1, LFA-1などの分子は質的機能的調節をうけ、それぞれのリガンドへの親和性を獲得することにより接着可能となる。接着浸潤した好中球は活性化され、顆粒球中のエラスターゼなどの蛋白分解酵素やフリーラジカルなどの放出を引き起こし、臓器障害が生じる。活性化された好中球はリソゾーム酵素やPAFなどの脂質を生成するが、これらは相互にその作用を増強し、肺障害などの組織障害をもたらす。本項では敗血症時の呼吸障害について概説する。

Key words : 敗血症, ALI, ARDS, 好中球, サイトカイン

12. 敗血症と呼吸障害

1. はじめに

敗血症時の急性呼吸器不全は、急性肺障害 (acute lung injury; ALI) や急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome; ARDS) の発生に先行して発症する。ARDSが局所のおよび全身的な様々な障害に対する非特異的反応である。敗血症は、ARDSに至る最もよく知られた前駆病状の1つであり、ARDS症例の1/3以上がこれに起因している¹⁾。ARDSに最もよく関連する敗血症の原因は、肺および腹腔内感染症である²⁾。

ARDSは、敗血症症候群患者の25～42%で発症し、ショック状態が持続する場合に増加する³⁾。敗血症に合併する急性呼吸不全はしばしば多臓器不全症に至る全身的な一過程であると認知されている。

敗血症によるARDSの発生率および死亡率を明らかにする試みは、この症候群を定義する一定の基準がないために困難であった。ほとんどの研究者は、両側性肺浸潤、ガス交換能不全、適切なリスク要因の確認、そして左心室機能障害が無いことを必要としている。しかし、これらの要素それぞれを定める基準が変動するものであり、このことがARDSに関する米欧コンセンサス会議

Shigeatsu Endo et al.: Sepsis and pathophysiology.

*岩手医科大学医学部 救急医学 **岩手県立胆沢病院 外科

(American-European Consensus Conference on ARDS)において急性肺障害とARDSの定義を明らかにし、定める動機となった³⁾。ARDS患者は予期される予後が広範な不均一な集団である。米国におけるARDSの発生率は推定100,000人あたり5~71人と幅がある^{3, 4)}。死亡率は30~70%の範囲で、これは30数年前に本疾患が最初に記述されたときと同様であるが^{3~5)}、いくつかの研究では生存率の改善が報告されている⁶⁾。死因は呼吸器不全ではなく、敗血症から離脱不能であるかあるいは多臓器不全症が最も多い⁷⁾。

年齢、疾患の重症度、病因、多臓器不全症の有無などいくつかの要因がARDSの死亡率に常に影響することが示されている。敗血症の存在はARDSの死亡率増加と関連している^{1, 3, 4)}。初期の低酸素血症の程度は、信頼し得る予後指標とは認められていないが^{1, 5)}、最初の24~72時間の酸素化傾向は有効である^{3, 4)}。肺障害の重症度をグレード化するための肺障害スコア (lung injury score; LIS) は有用なシステムであり⁸⁾、初期LISが死亡率と関連していることが示されている。LIS>3.5の患者の生存率は18%, LIS2.5~3.5で30%, LIS1.1~2.4で59%, LIS<1.1で66%であることが認められている⁵⁾。

2. 病因

a. 敗血症における急性肺障害モデル

敗血症患者に見られる急性肺障害の実験モデルは、主に二つのタイプに分けられる。一つは、動物に細菌を注入するか、または動物自身が持つ細菌を自家接種 (腸管穿孔や糞便汚染による腹膜炎モデルの作製) することにより、インタクトな動物における、ときに全身性の、実際の敗血症モデルを使用する。もう一方は、患者で特定され推定される個々の傷害原因あるいはメディエータを、細胞、単離肺、またはインタクトな動物で使用するものである。これらのモデルには、好中球や補体の活性化、アラキドン酸代謝物、リポ多糖 (LPS)、サイトカイン類の投与が含まれる。敗血症動物を用いたモデルは、関与する病態生理学的状況をより厳密に再現するという長所があるが、もう一つのモデルでは、ある特定のメディエータや特定の細胞タイプの役割をより正確に研究者が

検討することができ、障害サイズを制御できるという利点がある。ARDS患者や実験モデルにおいて高値を示す多くの液性因子は、敗血症に認められる肺機能不全を仲介すると言われている。

b. 好中球

ARDSの病因は複雑である。初期の見解では好中球および補体の活性化の役割が強調されていた。早期ARDSの患者における気管支肺泡洗浄液 (BALF) に関する研究では、好中球数増加と高濃度の好中球酵素が示され、両方が肺障害の重症度と相関していた⁹⁾。敗血症の患者では、BALF好中球濃度の持続的な上昇が死亡症例で見出された⁹⁾。BALF好中球濃度は、他の炎症性産生物の直接的な尺度ではないが、肺胞間隙への好中球の移動を促進または阻害するメディエータのバランスを反映するものであることが示唆されている⁹⁾。

かつては、肺内部における好中球の集積と活性化は同義とされていた。しかし、肺組織間隙での好中球集積は、その活性化とは別のプロセスであり、明確に異なるものであることが明らかにされた。肺内部における好中球集積は、敗血症性傷害後に数時間で発生する^{10, 11)}。その集積は、肺胞マクロファージにより産生される走化性メディエータの同時に起こる増加と、肺血管内皮と好中球自体の接着分子のアップレギュレーションにより仲介されるようである¹²⁾。

肺内部での好中球活性化は微小血管の障害を惹起し、これは好中球プロテアーゼと活性酸素によるものである^{13, 14)}。細胞膜脂質成分が酸化し、BALF中に脂質過酸化物の副産物が検出される場合には、細胞障害が発生している¹⁵⁾。H₂O₂の呼気中および尿中濃度もARDS患者では上昇しており^{16, 17)}、特に敗血症患者ではその上昇程度が肺障害の重症度と相関していた。長時間にわたる持続性のレベル上昇は、死亡率の増加と相関した¹⁷⁾。好中球の粘着や活性化の予防、およびプロテアーゼ活性の減弱は、敗血症モデルや好中球活性化モデルにおける微小血管障害の緩和に有効であることが示されている^{13, 18)}。

抗酸化作用を有するものには細胞内スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼやサイトゾル漿液のアスコルビ

ン酸、還元型グルタチオン、および脂溶性ビタミンEがある。さらに、トランスフェリン、ラクトフェリン、フェリチンなどの鉄を結合する物質であり、血漿タンパク質も抗酸化物として作用すると考えられている¹⁵⁾。ARDS患者や発症リスクのある患者では、抗酸化物が欠乏しているという報告がある一方、N-アセチルシステインやプロシステイン過多についての研究では矛盾する結果が示されている^{15, 19)}。

好中球が早期肺障害において中心的な役割を果たしていることは明白であるが、好中球減少症患者でもARDSを発症する可能性があり、このことは肺胞マクロファージのような他のエフェクター細胞もまた重要であることを示唆している。肺胞マクロファージは、タンパク分解酵素、アラキドン酸代謝産物や他の炎症メディエータのみならず、活性酸素の産生、放出に関しても好中球と類似の能力を有している²⁰⁾。

c. サイトカイン

サイトカイン類は、種々の細胞から分泌される。サイトカインのうちtumor necrosis factor α (TNF- α) は、いくつかの実験モデルで、肺障害を惹起し、他のメディエータの効果を増強し、肺において微小血栓形成に関与する前凝固活性を有することが示されている^{21, 22)}。TNF- α とインターロイキン 1β (IL- 1β) は共に、好中球脱顆粒、ROS産生、ライソザイム放出を増加させるのみならず、内皮の粘着性分子や好中球、単球に対する走化性因子の合成も増大させる²¹⁾。

いくつかの研究により、早期および後期ARDS患者のBALF中TNF- α や他のサイトカインのレベルは上昇していることが示されている²³⁾。ARDS患者のうち、第1病日のTNF- α 血漿中レベルがより高く、長期に持続的な上昇を示す症例では、発症時レベルがより低く速やかに低下するような症例と比較すると、死亡率がより高い²⁴⁾。サイトカイン類は、早期ARDSでは内皮と表皮を障害して透過性を増大させ、後期では、線維化を促進する線維芽細胞と相互に作用すると思われる^{23, 24)}。

これらの炎症性メディエータの制御が、肺修復には重要であると考えられる。いくつかのモデル

において、TNF- α の効果に対抗するような作用物質が肺障害を軽減することが示されている²⁵⁾。敗血症患者における抗TNF- α モノクローナル抗体の多施設無作為化プラセボ対照試験では、敗血症ショック患者サブセット群で生存率の改善が示されている²⁶⁾。

d. エンドトキシン

敗血症において、エンドトキシンは好中球を肺に貯留し、補体と相乗的に作用し、好中球およびマクロファージの有毒物質産生を促進状態にする²⁰⁾。エンドトキシンの阻害により敗血症における死亡率が改善されるという初期の強い考えに反し、最近の多施設無作為化プラセボ対照試験では、抗エンドトキシンモノクローナル抗体HA-1AやE5投与患者で著明な効果は示されていない¹⁹⁾。

e. 脂質メディエータ

敗血症患者のBALF、血清の両方で高値のホスホリパーゼ A_2 (PLA $_2$) が認められ、その濃度はARDSのリスク増加と肺障害の重症度と関連していた。PLA $_2$ がARDSに関与するメカニズムにはいくつかあり、特にアラキドン酸およびその代謝物や血小板活性化因子の放出が関係する²⁷⁾。アラキドン酸産生物、特にトロンボキサン A_2 (TXA $_2$) やプロスタサイクリンは、敗血症およびエンドトキシン仲介肺障害の（シグナル伝達機構による）直接的または間接的メディエータであると言われている²⁸⁾。TXA $_2$ は強力な平滑筋収縮物質および血小板凝集物質であり、一方、プロスタサイクリンは血管拡張物質、膜安定化作用物質、および血小板抗凝集物質である。TXA $_2$ は炎症性細胞から、プロスタサイクリンは内皮細胞から放出される。急性肺障害の実験モデルでは、TXA $_2$ の早期上昇は、早期障害と気管支収縮と関連している。これらのモデルにおいて、TXA $_2$ 阻害により肺高血圧の早期発症が軽減される²⁸⁾。

イブプロフェンによるシクロオキシゲナーゼの非特異的阻害は、全てではないが、いくつかのモデルにおける急性肺障害の軽減に有効であることが示されている²⁹⁾。イブプロフェンは、重症敗血症患者を対象とした2つの小規模無作為化プラセボ対照臨床試験で研究されたが、いずれも予後の

改善は認められなかった¹⁹⁾。敗血症患者におけるイブプロフェン静脈内投与の大規模多施設共同無作為化プラセボ対照試験の結果がまとめられつつある。

プロスタグランジンE₁ (PGE₁) に関する研究により、心拍出量の改善と血小板活性化の阻害とともに、肺および全身血管抵抗の低下が示されている³⁰⁾。初期の臨床試験では生存率の改善が認められたが、2つの対照試験（うち1試験は大規模多施設試験）では実証されなかった³⁰⁾。

3. 病理学的検討

ARDSの組織学所見は、びまん性肺胞損傷である³¹⁾。びまん性肺胞損傷の特徴は病因論的には非特異的であること、および高濃度酸素補給などのARDSのための治療や播種性血管内凝固症候群(DIC)などのARDSに関連した過程によっても、びまん性肺胞損傷の病理的变化を引き起こし得ることは理解しておくべきである³²⁾。これらの病理学的変化は、時間的に若干オーバーラップし、間質および肺胞の浮腫と出血が基本的特徴の滲出相、組織化と修復が起こっている増殖相、終末期病相を示す線維化相の3相に分けることができる^{31, 32)}。

a. 滲出相

組織学的によく知られた最も早期の変化は、肺胞表面の約95%を占める内皮細胞とタイプ1肺胞上皮細胞に対する損傷である。内皮細胞が腫大し、細胞間結合部が拡大し、飲細胞小胞が増加し、毛細血管基底膜が破壊され、これらにより毛細管漏出と浮腫形成に至っている^{31~33)}。内皮細胞の損傷は、その修復能のために比較的目立たないこともあり、従って、間質性浮腫の程度は、内皮における比較的軽度な変化に対して不釣り合いに認められることが多い^{32, 33)}。間質区画は伸展性で、大量の浮腫液を有することがある。しかし血管外液が正常容量の20%を超えると肺胞浮腫が起こる。血管内血栓と好中球集積が主に毛細血管内で認められる。タイプ1肺胞上皮細胞も腫大し、細胞質空胞化、囊胞形成、それらの結果として基底膜からの脱離が認められる^{31~33)}。タイプ2肺胞上皮細胞は損傷に対してより抵抗性である。肺胞崩壊、ヒ

アリン膜も存在する³¹⁾。

b. 増殖相

増殖相は障害後早くも第3日目より始まるが、第2, 3週目で極めて明確になり、タイプ2肺胞上皮細胞の再生で開始され、露出された基底膜内層を新しく覆う。これらタイプ2細胞は大型で、核異型性、膨隆核小体、層板状体異常を示す^{31~33)}。

増殖相では線維化が顕著となり、種々のメカニズムがその後に続く³⁴⁾。線維芽細胞と筋線維芽細胞が間質と肺胞滲出液に移動し、細胞性顆粒組織を形成する。コラーゲンが沈着し、無細胞性線維症となる。衰退しない線維増殖は末期肺胞線維症を招く。この進展は、初期の炎症反応の程度と炎症反応の遷延により決まるようである³³⁾。肺胞内組織は、タイプ2細胞による表層の新しい上皮形成にともなう結果として間質に取り込まれる。これは癒着による線維症として知られている過程であり、中隔あるいは壁在性線維症に帰着する^{31~34)}。この過程は、肺胞管、間隙および呼吸細気管支、終末細気管支に起こり、閉塞性細気管支炎に至る。

滲出相および早期増殖相では、炎症サイクルが中断されると肺の完全治癒の可能性がある。治癒にはアポトーシス過程が関与すると考えられる。アポトーシスは、プログラムされた細胞死であり、死滅細胞が食細胞作用を受けるまでの間、アポトーシス細胞毒がその死滅細胞により妨害され、その結果、さらなる炎症進展と損傷を避けることができる³⁵⁾。

肺修復時のARDS患者のBALFは、主に気腔顆粒化組織で見られる線維芽細胞および内皮細胞の両方に細胞死を誘発し得る。内皮細胞はアポトーシスにより致死する³⁶⁾。肺障害患者においてアポトーシス像を示す細胞の存在は、組織学的に確認されている³⁶⁾。動物モデルでのデータでは、タイプ2細胞による肺胞基底膜の新たな被覆が、線維芽細胞増殖と細胞外マトリクス沈着の抑制に必須であり、また線維芽細胞は肺胞タイプ2細胞の再生を刺激するマイトゲンを分泌するということが示唆されている。そしてまた、同じこれら線維芽細胞は、肺胞内皮細胞のアポトーシスを引き起こし、修復を阻害する因子も分泌する³⁷⁾。好中球のアポトーシスも同様に起こり、ラット急性肺障害

モデルにおいて、マクロファージがアポトーシスを起こしている好中球を貪食し、15～20分以内に分解したことが示されている³⁵⁾。

c. 線維化相

肺線維化は損傷発生後早くも36時間後に始まり³⁸⁾、呼吸器不全の第3または第4週までに広汎な肺再構築が起こる。組織学的には、肺胞中隔と気腔壁は無細胞性および膠原性結合組織で構

成されている。気腔は、小嚢腫様のもので拡張し、肺胞管線維症が認められる^{32, 33)}。時間とともにタイプ3弾性膠原線維がタイプ1固縮膠原線維に置き換わり、ARDS非生存者では、肺コラーゲン含量は2～3倍に増加する。生検における線維化の程度は、死亡率と相関する^{33, 39)}。ARDSのこのような後期ステージでは、15～40%の死亡が呼吸不全に直接的に起因するものである⁷⁾。

文 献

- 1) Knaus, W.A., Sun, X., Hakim, R.B. et al.: Evaluation of definition for adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* **150** : 311 - 317, 1994.
- 2) Seidenfeld, J.J., Pohl, D.F., Bell, R.C. et al.: Incidence, site, and outcome of infections in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* **134** : 12 - 16, 1986.
- 3) Bernard, G.R., Artigas, A., Brigham, K.L. et al.: The American-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* **49** : 818 - 824, 1994.
- 4) Sloane, P.J., Gee, M.H., Gottlieb, J.E., et al.: A multi-center registry of patients with acute respiratory distress syndrome: physiology and outcome. *Am Rev Respir Dis* **146** : 419 - 426, 1992.
- 5) Vasilyev, S., Schaap, R.N., Mortensen, J.D.: Hospital survival rates of patients with acute respiratory failure in modern respiratory intensive care units: an international, multicenter, prospective survey. *Chest* **107** : 1083 - 1088, 1995.
- 6) Morris, A.H., Wallace, C.J., Menlove, R.L. et al.: Randomized clinical trial of pressure-controlled inverse ratio ventilation and extracorporeal CO₂ removal for adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* **149** : 295 - 305, 1994.
- 7) Montgomery, A.B., Stager, M.A., Carrico, C.J. et al.: Cause of mortality in patients with adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* **132** : 485 - 489, 1985.
- 8) Murray, J.F., Matthay, M.A., Luce, J.M. et al.: An Expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* **138** : 720 - 723, 1988.
- 9) Steinberg, K.P., Milberg, J.A., Martin, T.R. et al.: Evolution of broncoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* **150** : 113 - 122, 1994.
- 10) Nahum, A., Chamberlin, W., Sznajder, J.I.: Differential activation of mixed venous and arterial neutrophils in patients with sepsis syndrome and acute lung injury. *Am Rev Respir Dis* **143** : 1083 - 1087, 1991.
- 11) Peralta, J.G., Barnard, M.L., Turrens, J.F.: Characteristics of neutrophil influx in rat lungs following fecal peritonitis. *Inflammation* **17** : 263 - 271, 1993.
- 12) Laurent, T., Markert, M., Von, Flidner, V. et al.: CD11b/CD18 expression, adherence, and chemotaxis of granulocyte in adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* **149** : 1534 - 1538, 1994.
- 13) Okumura, Y., Inoue, H., Fujiyama, Y. et al.: Effects of serine protease inhibitors on accumulation of polymorphonuclear leukocytes in the lung induced by acute pancreatitis in rats. *J Gastroenterol* **30** : 379 - 386, 1995.
- 14) McCord, J.M., Gao, B., Leff, J. et al.: Neutrophil-generated free radicals: possible mechanisms of injury in adult respiratory distress syndrome. *Environ-Health Perspect* **10** : 57 - 60, 1994.
- 15) Gutteridge, J.M., Quinlan, G.J., Mumby, S. et al.: Primary plasma antioxidants in adult respiratory distress syndrome patients: changes in iron-oxidizing, iron-binding, and free radical-scavenging proteins. *J Lab Clin Med* **124** : 263 - 273, 1994.
- 16) Sznajder, J.I., Fraiman, A., Hall, J.B. et al.: Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic respiratory failure. *Chest* **96** : 606 - 612, 1989.

- 17) Mathru, M., Rooney, M.W., Dries, D.J. et al.: Urine hydrogen peroxide during adult respiratory distress syndrome in patients with and without sepsis. *Chest* **105** : 232 - 236, 1994.
- 18) Wang, W., Suzuki, Y., Tanigaki, T. et al.: Effect of the NADPH oxidase inhibitor apocynin on septic lung injury in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* **150** : 1449 - 1452, 1994.
- 19) Hudson, L.: New therapies for ARDS. *Chest* **108** : 79S - 91S, 1995.
- 20) Rinaldo, J.E., Christman, J.W.: Mechanism and mediators of the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* **11** : 621 - 632, 1990.
- 21) Marks, J.D., Marks, C.B., Luce, J.M. et al.: Plasma tumor necrosis factor in patients with septic shock: mortality rate, incidence of adult respiratory distress syndrome, and effects of methylprednisolone administration. *Am Rev Respir Dis* **141** : 94 - 97, 1990.
- 22) Chang, S.W.: Endotoxin-induced pulmonary leukostasis in the rat: role of platelet-activating factor and tumor necrosis factor. *J Lab Clin Med* **123** : 65 - 72, 1994.
- 23) Li, X.Y., Donaldson, K., Brown, D. et al.: The role of tumor necrosis factor in increased airspace epithelial permeability in acute lung inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* **13** : 185 - 195, 1995.
- 24) Meduri, G.U., Headley, S., Kohler, G. et al.: Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS: plasma IL-1b and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* **107** : 1062 - 1073, 1995.
- 25) Windsor, A.C., Mullen Walsh, C.J. et al.: Delayed tumor necrosis factor blockade attenuates pulmonary dysfunction and metabolic acidosis associated with experimental Gram-negative sepsis. *Arch Surg* **129** : 80 - 89, 1994.
- 26) Abraham, E., Wunderink, R., Silverman, H. et al.: Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor α in patients with sepsis syndrome. *JAMA* **273** : 934 - 941, 1995.
- 27) Kim, D.K., Fukuda, T., Thompson, B.T. et al.: Bronchoalveolar lavage fluid phospholipase A2 activities are increased in human adult respiratory distress syndrome. *Am J Physiol* **269** : L109 - L118, 1995.
- 28) Demling, R.H.: The modern version of adult respiratory distress syndrome. *Annu Rev Med* **46** : 193 - 202, 1995.
- 29) Li, J.X., Oliver, J.R., Lu, C.Y. et al.: Delayed thromboxane or tumor necrosis factor- α , but not leukotrienes inhibition, attenuates prolonged pulmonary hypertension in endotoxemia. *Am J Med Sci* **310** : 103 - 110, 1995.
- 30) Temmesfeld-Wollbruck, B., Walmsrath, D., Griminger, F. et al.: Prevention and therapy of the adult respiratory distress syndrome. *Lung* **173** : 139 - 164, 1995.
- 31) Katzenstein, A.A., Bloor, C.M., Leibow, A.A.: Diffuse alveolar damage-the role of oxygen, shock, and related factors: a review. *Am J Pathol* **85** : 210 - 228, 1972.
- 32) Tomashefski, J.F. Jr.: Pulmonary pathology of the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* **11** : 593 - 619, 1990.
- 33) Burkhardt, A.: Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* **140** : 513 - 524, 1989.
- 34) Fukuda, Y., Ishizaki, M., Masuda, Y.: The role of intra-alveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodeling in patients with diffuse alveolar damage. *Am J Pathol* **126** : 171 - 182, 1987.
- 35) Cox, G., Crossley, J., Xing, Z.: Macrophage engulfment of apoptotic neutrophils contributes to the resolution of acute pulmonary inflammation in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol* **12** : 232 - 237, 1995.
- 36) Polunovsky, V.A., Chen, B., Henke, C. et al.: Role of mesenchymal cell death in lung remodeling after injury. *J Clin Invest* **92** : 388 - 397, 1993.
- 37) Uhal, B.D., Joshi, I., True, A.L. et al.: Fibroblasts isolated after fibrotic lung injury induce apoptosis of alveolar epithelial cell in vitro. *Am J Physiol* **269** : L819 - L828, 1995.
- 38) Martin, C., Papazian, L., Payan, M.J. et al.: Pulmonary fibrosis correlates with outcome in adult respiratory distress syndrome: a study of mechanically ventilated patients. *Chest* **107** : 196 - 200, 1995.

I 総論

診断法

Diagnosis for infection

遠藤 重厚* 佐藤 信博**

Shigeatsu Endo and Nobuhiro Sato

◆key words: 診断, 感染症, エンドトキシン, β -D-グルカン, プロカルシトニン

どのような物質を診断するか

1. エンドトキシン

エンドトキシンはグラム陰性細菌性敗血症の病態生理学における一次性誘発物質である。したがって、エンドトキシンは重要なモニタリング指標とみなされる。しかし、エンドトキシン測定にはいくつかの障害があった。内毒素のみの測定では誤りにつながることがあり、循環血液中では細菌/エンドトキシンの一過性発現が多いため、症例における発現を証明することが困難になり、このことが矛盾する臨床結果を招く原因とも考えられていた¹⁾。しかし、この誤解はエンドトキシン特異的な測定法を用いることのない欧米での結果であり、本邦においてはエンドトキシン特異的な測定法に加えて、さらに高感度法も開発され、エンドトキシン測定に関しては本邦

が世界をリードしているものと思われる²⁾。

現在一般的に用いられる比濁時間分析法はトキシノメーターを用いて、検体とカプトガニ血球から調整されたリムルス試薬を混和させた溶液のゲル化時間(リムルス反応)を測定する方法である(図1)(本法ではエンドトキシンと同時に後述の β -D-グルカンも測定できる)。

これには、リムルス反応を利用しているため特異度は非常に高い一方で、感度に関しては測定時間が短いと低下することや、試薬によりばらつきがでるという弱点があった。これまでのエンドトキシンのカットオフ値は、特異度と測定時間の短縮を重視し、3.5~5 pg/ml に設定されることが多く、感度が低いという問題があった。そこで測定時間を200分とすることにより、0.1pg/ml まで測定することができた。本法により、敗血症診断にけるエンドトキシン値の最適カットオフ値は1.1pg/ml とした。これ

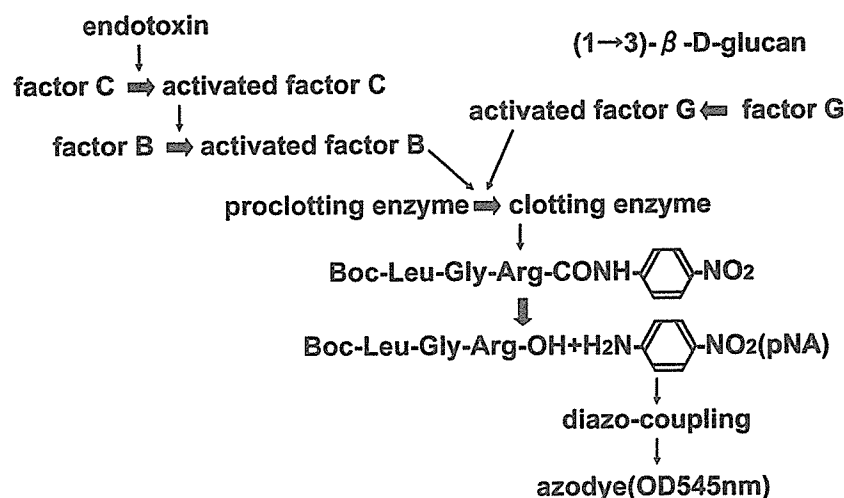


図1 リムルスカスケードによるエンドトキシンと β -D-グルカン測定の原理

* 岩手医科大学医学部救急医学教授 ** 同講師

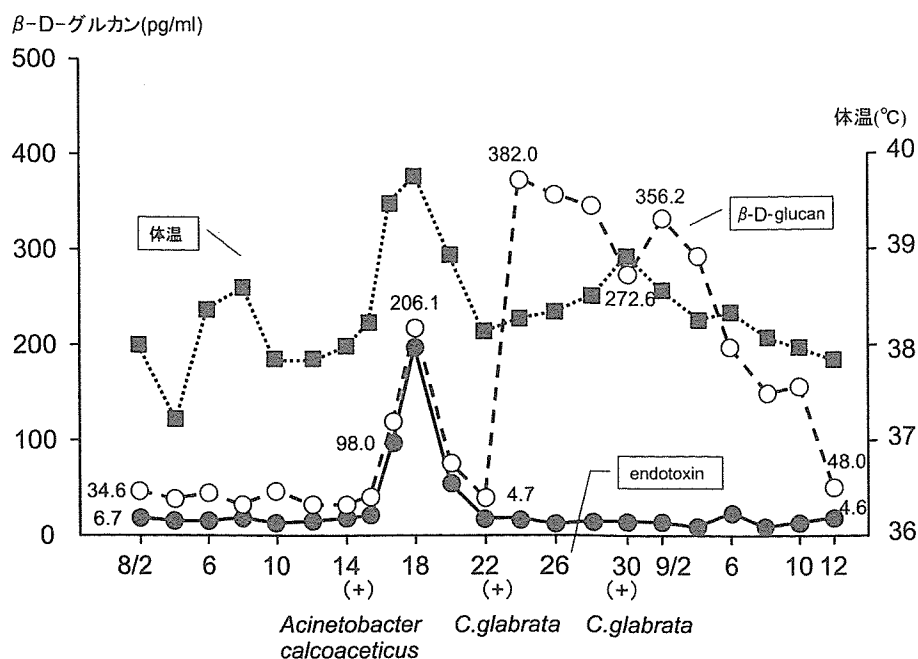


図2 グラム陰性菌感染症と真菌感染症を合併した熱傷患者のエンドトキシン、 β -D-グルカン値の推移

によると敗血症診断における感度は81.3%，特異度は86.1%となり，従前のカットオフ値を5.0pg/mlに想定した場合に比べてその感度は3倍以上になった²⁾。これまでマスクされていた1.1～5 pg/mlのエンドトキシン血症症例に対して，エンドトキシンをターゲットとして治療を行うことにより，著明な臨床効果が得られることは，エンドトキシン高感度測定法の位置づけにおいて臨床非常に重要であることを示唆するものである³⁾。

実際の測定に際し注意することは，採血後室温で長時間放置することなく，なるべく早期に血漿を分離し低温保存しておくことである。

2. β -D-グルカン

救急・集中治療などにおいては，多発外傷，広範囲熱傷，中毒など重篤な基礎疾患を有する患者あるいは侵襲の大きい周術期の患者に対して，必然的に集学的治療を行う結果，抗生物質，免疫抑制薬，ステロイド薬などの長期投与，中心静脈栄養あるいは血液浄化法時のカニューラ類の使用などにより易感染性に陥り，深在性真菌症を合併することが少なからずみられる。

深在性真菌症を合併するような病態においては，汎血管内凝固症候群，急性呼吸不全症候群さらには多臓器不全症などに進展し，治療に難渋することが多く，このような重篤な病態を予防するためにも深在性真菌症の早期診断が必要となる。

カプトガニの血球抽出液を用いたエンドトキシン測定法としてのリムルテストは，エンドトキシンに反応する factor C の他に真菌の細胞壁成分である (1→3)- β -D-グルカン (以下， β -D-グルカン) に反応する factor G も含まれており，エンドトキシンのみならず β -D-グルカンでも陽性になる。これを応用することにより真菌の菌体成分である β -D-グルカンを測定する (図2)。

3. プロカルシトニン (表1)

プロカルシトニンは116-アミノ酸プロペプチドで，タンパク質が分解されてホルモンのカルシトニンになる。PCT は症例における細菌性敗血症 (ウイルス性感染レベルが低い) のきわめて早期の識別マーカーではないかと考えられている⁴⁾⁵⁾。市販のアッセイが利用できるようになったため，ますます多くの臨床研究が実施されている。カルシトニンの産出源は一般に甲状腺細胞 (およびその他の神経内分泌細胞) とみなされているが，この細胞は，甲状腺摘出敗血症症例でも感染によるプロカルシトニン増加がみられるため，おそらくプロカルシトニン供給源ではないと思われる (図3)。

忘れてはいけない検査は？

救急の現場においては，どの微生物により感染症が起きているのかを推定・同定し，適切な抗菌薬を

表1 プロカルシトニン (PCT, ProCT)

・血中濃度 (ng/ml) :	
健常者	< 0.5
慢性炎症	< 0.5 ~ 1
ウイルス感染	< 0.5 ~ 2
中軽症の局所細菌感染	< 0.5 ~ 2
SIRS	5 ~ 20
重症感染症, sepsis, 多臓器不全	10 ~ 1000
真菌感染症	< 0.5 ~ 2 (稲田, 遠藤)
・エンドトキシン投与後 3 ~ 4 時間後に血中に出現, 24 時間まで徐々に増加	
・melioidosis, マラリア感染で上昇	
・甲状腺摘出された後の感染症患者でも PCT は上昇する:	
甲状腺以外の細胞では ProCT のままで分泌される	

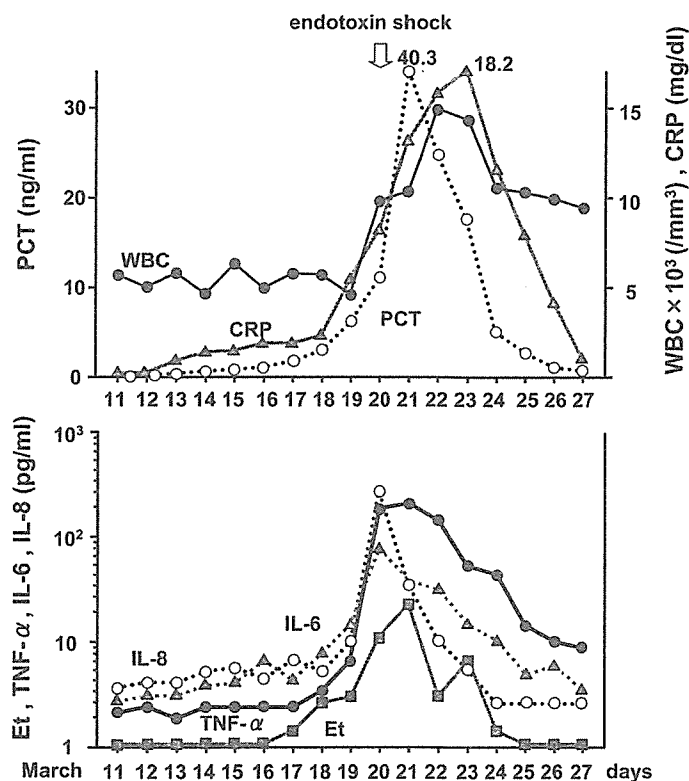


図3 ヘルペス脳炎後にエンドトキシンショックを合併した症例のプロカルシトニン, エンドトキシン値の推移

表2 微生物検査の結果を左右するポイント

- ・検体は抗菌薬の投与前に採取する
- ・適切な検体を摘出する
- ・検体は迅速に検査室に提出する
- ・検体提出の目的を適確に伝える

選択して治療を行うことが必要とされるが, 微生物検査の結果を左右するポイントを表2に示す。

病原体を同定することがなぜ重要なのであろうか。

第1には, 起因微生物を同定することにより広域

スペクトラムの抗菌薬の濫用を防ぐことができる。第2に感染症の種類によっては迅速な検査により診断・治療を速やかに行うことが可能となり, 予後の改善に直結する。第3に微生物学的検査は, 個人的レベルの結果から医療機関ひいては地域レベルの疫学情報を提供することもある。

とくに, グラム染色は救急の現場ではきわめて有用である。なぜなら,

- (1) 結果が迅速に得られる
- (2) 起因菌の種類がおおよそ推定できる
- (3) 感染が起きているかの判断が可能である

(4) 得られた検体が培養に値するかの判断が可能である

(5) 治療の判定にも使える

グラム染色検査は5分もかからない簡便なものであり、常にグラム染色を行える体制をつくっておくことが重要である。

【文 献】

- 1) Moore F, Poggetti R, McAnena O, et al : Gut bacterial translocation via the portal vein : A clinical perspective with major torso trauma. J Trauma 31 : 629-638, 1991.
- 2) 八重樫泰法, 稲田捷也, 佐藤信博, 他 : 血漿高感度エンドトキシン測定法について. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 7 : 25-28, 2003.
- 3) 遠藤重厚, 八重樫泰法, 佐藤信博, 他 : PMX 治療効果の検討 ; 高感度エンドトキシン測定法を用いた検討. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 8 : 79-83, 2004.
- 4) Gendrel D, Boyun C : Procalcitonin, a marker of bacterial infection. Infection 25 : 133-134, 1997.
- 5) 遠藤重厚, 葛西健, 稲田捷也 : 全身性炎症反応症候群における感染症および重症度診断としてのプロカルチニン値測定の意義. 感染症誌 73 : 197-203, 1999.

敗血症と生体反応(13)

遠藤重厚*	佐藤信博*	八重樫泰法*	今井聡子*
Shigeatsu Endo	Nobuhiro Sato	Yasunori Yaegashi	Satoko Imai
宮田美智子*	高橋学*	菅康德*	北村道彦**
Michiko Miyata	Gaku Takahashi	Yasunori Kan	Michihiko Kitamura

要 旨

肝は敗血症およびそれに付随する血行動態障害に対する全身性炎症反応に伴う重要な標的臓器の一つでもある。肝灌流と肝機能の免疫調節作用が障害されることにより、それらの敗血症関連の変化は複数の肝外臓器に損傷をきたしやすくとともに治癒の可能性を制限することになる。未だ、敗血症発症中の肝機能障害の機序についての理解は、死亡率を含む臓器特異的基準や全身性予後への影響と同様に不十分である。本項においては敗血症における肝における様々な病態について文献的考察を中心に述べる。

Key words : 敗血症, 肝機能, 肝微小循環

13. 敗血症と肝臓

1. はじめに

肝は、敗血症において複合的な宿主防御や免疫学的機能、生化学的機能および代謝機能の調節に中枢的な役割を果たすという認識がますます高まっている^{1,2)}。しかし、肝は敗血症およびそれに付随する血行動態障害に対する全身性炎症反応に伴う肝損傷展開中の標的臓器でもある^{3,4)}。肝灌流と肝機能の免疫調節作用が障害されることにより、それらの敗血症関連の変化は複数の肝外臓器に損傷をきたしやすくとともに治癒の可能性を制限することになる¹⁾。様々な理由により、敗血症発症中の肝機能障害の機序についての理解は、死亡率を含む臓器特異的基準や全身性予後へ

の影響と同様に不十分である。重症患者の生存は一般的に不良であることを考慮し、重大な肝疾患既往を有する患者は敗血症関連の多臓器不全研究から除外されることが多かった^{5~7)}。肝機能障害はこれまで標準的な“肝機能検査”⁸⁾により非特異的に定義されてきたが、この検査では、類洞の灌流が十分であるか、またはクッパー細胞を介する細菌の食作用および敗血症の副産物等の免疫過程が十分かどうかを完全に追跡することはできない。さらに肝は、心臓や肺、または腎ほど臨床研究が容易な臓器ではなく、肝機能障害は早期に明白に現われるものでもない。培養細胞や動物モデルにおける研究により敗血症発症中の肝機能障害の生理学的機序に光が当てられたが、これら所見をそのまま臨床へと結びつけることはモデルや種依存性因子により問題が多い。敗血症関連肝機能

Shigeatsu Endo et al.: Sepsis and pathophysiology.

*岩手医科大学医学部 救急医学 **岩手県立胆沢病院 外科

障害の決定因子について理解し、その発生を最小限に抑制するには、肝独特の血管供給や解剖学的機構、および複雑な細胞間相互作用を熟知することが不可欠である。

2. 肝の血行動態, 解剖学, および細胞の特徴

敗血症発症中のクッパー細胞, 肝細胞, 類洞内皮細胞が損傷されやすいことだけでなく, 恒常性の維持機能も, 血行動態因子と微小循環因子間の複雑な相互作用に関連している。総肝血流 (Q_{liver}) は通常, Q_{liver} の60~80%を構成する低圧, 高流量の門脈系と, 残りを構成する高圧, 低流量の肝動脈循環に分けられる¹⁾。類洞細胞は完全に混合した動脈門脈血の供給を受けるが, 2つの巡回の圧-流量, 酸素運搬能, 自己調節の特徴の差は有意で, 敗血症発症中にはさらに大きくなることさえある。門脈血流量 (Q_{pv}) は, 全身血液量の20~25%を占め心拍出量の25%を受け取る身体領域最大の血管巡回である内臓循環からの流出血流である¹⁾。肝動脈血流 (Q_{ha}) とは対照的に, 門脈巡回では圧-流量自己調節は最小である。このように Q_{pv} は, 肝上流の血行動態因子, 特に腸間膜, 胃または脾動脈血流入量をこれら血管床の動脈抵抗変化により調節する因子により, 一次的に決められる。

薬理学的にまたは出血性ショックにより誘導した非敗血症実験条件下では Q_{pv} と Q_{ha} の間に血流の相互依存関係が存在し, 浸透圧, ガス圧の前類洞性変化, またはアデノシン等の内因性血管拡張物質の蓄積により, 一方の血流低下はもう一方の代償性上昇により最小限になる。肝動脈緩衝反応はこの過程の典型⁹⁾ で, Q_{pv} の低下は Q_{ha} の上昇により一部代償される。

門脈周囲から中心静脈を取り巻く小葉中心帯へと, 類洞内酸素の有意な濃度勾配が存在する。このように門脈周囲領域は PO_2 の高い血液を受け取り, 他のゾーンより活性が高く熱量依存性タンパク質合成の機能分化が進んだ肝細胞を有している。身体の単核細胞重量の約90%を占めるクッパー細胞^{1, 4)} も, 貪食リソソームをベースにした殺菌機能に加え, 細菌と敗血症副産物の酸素依存性の食細胞性摂取と協調し, この領域ではより大量に存在している¹⁰⁾。これに相応して, 上流の肝に

よる酸素使用後に小葉中心帯で利用可能な PO_2 の低下は, 酸素供給が制限された条件下ではこの領域に虚血性の低酸素障害を起こしやすくする³⁾。

身体の内皮の中では独特な, 典型的に密接な接点を持つ有窓類洞内皮が存在する。これにより, 類洞間で増強し続けている溢流が肝の血管外スペースに流れ込み, 肝静脈圧 (P_{hv}) または肝内の閉鎖圧のいずれにみなされた場合も, 肝逆圧上昇は最小限になる^{11, 12)}。

3. 病因

肝機能の複雑性とその常在細胞の多様性を考慮し, 敗血症発症中の肝機能障害の説明について複合的な病原論的機序が提起されている。そのほとんどは, 生理学的過程, 細胞過程, および分子過程を含む主な4つのカテゴリーに分類することができる。肝機能障害を伴う敗血症患者における多臓器不全では幾多の機序の中で時間依存性に変化する相互作用のため¹³⁾, 各機序の相対的関与の解析は困難である。とはいえ, それらの敗血症過程の描写は概念的に有用であり, 治療効果があると思われる介入も推測される。

a. 血行動態の変化と肝循環反応

Q_{liver} の直接測定が不可能であること, 重篤な患者では Q_{pv} と Q_{ha} の同時測定が方法論的に困難であることを考慮すると, ヒト敗血症における肝循環の変化についてはほとんど知られていない。実験モデルの研究では洞察が可能であるが, 3つの要因により依然として不確実なままである: (a) 麻酔薬による心血管反射の鈍化を伴わない臨床敗血症がより長期に展開するのとは対照的に, 麻酔動物におけるその種の研究は急性期のものであること, (b) 精製リポ多糖類またはその他の細菌性製品の大量投与と, 生菌が関与する感染モデル巢が比較的少ないこと, (c) 敗血症および実験デザインにより成績が異なること⁴⁾ である。

敗血症発症後の早期において, 内臓静脈の血液貯留による血液量不足と心拍出量を低下させる微小血管透過性亢進は Q_{pv} と Q_{ha} の両者の並行的低下を誘発する¹⁾。同様の所見は実験敗血症モデルにおける内毒素血症後の一酸化窒素 (NO) 阻害後に報告されている¹⁴⁾。しかし, 敗血症への Q_{pv}

反応は血液量の十分な回復、すなわち心拍出量や門脈内毒素血症、血管収縮薬投与による α -アドレナリン受容体の薬理的刺激、陽圧換気により強力に調節される。血液量が不足している動物⁴⁾とは対照的に、血液量回復内毒素血症ウサギ¹⁵⁾と盲腸結紮穿孔ラット¹⁶⁾における Q_{pv} の上昇¹⁵⁾は心拍出量の上昇と関連し、 Q_{liver} の門脈分は同様に、心血行動態亢進を認める敗血症患者においては正常化することが推測される。肝静脈カテーテル挿入により測定した Q_{liver} とICGクリアランスは敗血症患者では上昇した^{17, 18)}。しかし、敗血症自体は、独立した方法で測定した Q_{liver} が上昇していても、肝細胞によるICG抽出を低下させると考えられる¹⁹⁾。従って、他の臨床状況における正確さとは別に、ICGをベースにしたICGクリアランスと肝抽出の割合を用いた Q_{liver} の測定は敗血症発症中の実際の Q_{liver} を過大評価する可能性がある。これ以外にも敗血症は、非敗血症性循環ストレスがある場合に Q_{pv} を維持する効果的なホメオスタシス維持機構を障害することもある。*E.coli*由来内毒素をブタモデルに投与したところ、対照条件と比較して、広範囲にわたり血流の門脈静脈の圧-流量関係が上方に変化した²⁰⁾。関連研究において、肝動脈緩衝反応は内毒素血症後に著明に減衰した²¹⁾。さらに、短期的な門脈内毒素血症(麻酔下のブタに $LPS 1 \mu g/h$ を注入)は、肺血管抵抗の持続的上昇を誘発するLPSの漏出とともに、門脈静脈抵抗を約160%、肝動脈抵抗を350%上昇させた²²⁾。これらの内毒素誘導性門脈圧亢進は、全身性心血管恒常性と腸機能の両者に有害な結末をもたらすと考えられる。肝閉鎖圧と門脈抵抗上昇により内臓コンパートメントに閉じ込められた血液により、内臓静脈環流と右室前負荷は低下する²³⁾。さらに、腸間膜静脈流出血流により上昇した門脈逆圧は、腸浮腫形成、サードスペースの体液の腹腔への喪失、および新たな内臓血液貯留を起しやすくなる。他の領域の循環床と比較した内因性または薬剤誘導性 α -アドレナリン受容体刺激に対する内臓循環の感受性の差は、血管収縮薬により循環不安定に対応する際に、腸間膜動脈流入血流の選択的低下、つまり Q_{pv} が全身血流が見かけ上は正常であるにもかかわらず持続することも示唆する。しかし、血管収縮薬はす

べて腸間膜灌流を均一に危うくし、そのため非敗血症または敗血症条件下の Q_{pv} も危うくなるという、広く受け入れられている見解は過度に単純化されているきらいがある。*Bersten*ら²⁴⁾は、非敗血症ヒツジにノルエピネフリン、ドブタミン、ドパミン、またはドベキサミン注入後、全身血流は心臓に再分布し肝から離れることを示した。対照的に、そのような血流再分布は敗血症動物では見られず、内毒素血症ブタにおける*Breslow*ら²⁵⁾の報告と一致する。

陽圧換気(PPV)は、特に呼気終末陽圧(PEEP)と同時に発生すると、敗血症発症中の肝機能障害の発症原因を考察する時には通常顧みられない肺-肝相互作用を誘発する。PEEPを伴うPPVでは、胸腔内圧の一過性および持続性上昇は、いくつかの機序により Q_{liver} とその分布を変化させる。これらの相互作用の基盤は、危機的な肝内閉鎖圧(P_c)と類洞圧(P_s)分布の関係である。この関係により、 Ph_v が P_c より低い場合の並行チャネルを通じた類洞血流に対する増分抵抗が定義される。 Ph_v が P_c より高いかまたは等しい場合、類洞径の変化と上昇する P_s 補充は類洞間の体液浸潤と流量依存性の機能を決定する^{12, 26)}。従って、有効な逆圧は、 Ph_v であれ P_c であれ、高い方の圧である。吸気時の胸腔内圧(ITP)上昇は位相性に、横隔膜圧迫による P_c 上昇と、右房圧遥動の肝方向への逆行性伝播による Ph_v 上昇の双方をもたらす。

理論上は、PPVの間、肝静脈流出血流の時間定数を超える値である危機的な呼吸頻度(f)閾値が存在するが、肝の血液封入が進行し浮腫をきたす。しかし、平均ITPを一定に保った $f \leq 2.5 \text{ Hz}$ (150回/分)におけるイヌモデルでは、 Q_{pv} または Q_{ha} を変化させる危機的な f もICGの抽出とクリアランスの変化もみられなかった²⁶⁾。PEEPは、 Q_{pv} または Q_{ha} の選択的低下や横隔膜圧迫による肝血管抵抗の上昇、肝浮腫の進行、および総胆管十二指腸血流抵抗増により、流量依存性肝機能を障害すると報告されている。しかし中心的な問題は、これらの作用が、PEEP関連の心拍出量低下が流量供給により回復した後にも発生または持続するかどうかである。正常な有窓類洞内皮のprotein reflection coefficientが減衰していること