
原 著

肝切除術後症例における Endotoxin Activity Assay の有用性

石川 博 補

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科）
（主任：若井俊文教授）

Effectiveness of the Endotoxin Activity Assay to Predict Postoperative Complications after Hepatectomy

Hirosuke ISHIKAWA

*Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Director: Prof. Toshifumi WAKAI)*

要 旨

【緒言】肝硬変などの背景疾患を有する肝切除では術後感染症が多く発生し、予後を大きく左右するため、その克服は重要な課題である。しかし、術後感染症治療において感染源が不明である病態はしばしば経験することであり、そのなかでも、Bacterial translocation (BT) は敗血症に進展する場合もあり、無視できない合併症である。BTは腸内細菌やエンドトキシンが腸管壁を通過し、正常な生体組織に移行する状態と定義されている。血中エンドトキシンの測定は術後感染症やBTの診断に有用であるが、従来の測定法では結果に約24時間を要し偽陽性も少なからず認められるため、実臨床での治療応用には問題があった。近年、エンドトキシンの新しい測定法としてEndotoxin Activity Assay (EAA)が開発され、測定時間が約30分に大幅に短縮し検査精度も向上した。EAAは血液中のエンドトキシン濃度に応じて免疫複合体を形成させ、それに反応した患者の好中球・補体から産生される活性酸素を測定することで、Endotoxin Activity Level (EA値)を算出する。本研究では、肝切除症例においてEAAを用いてEA値の測定を行い、EAAが肝切除術後の感染性合併症やBTの診断に有用かどうかを明らかにする。

【方法】2015年4月から11月までに当科で肝切除術を施行した21例を対象とした。術後1日目に採取した末梢血液を用いてEA値を測定した。EA値が0.4未満のEA低値群と0.4以上

Reprint requests to: Hirosuke ISHIKAWA
Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科）

石川 博 補

のEA高値群とに分け、2群間で周術期因子および術後合併症について比較検討した。2群間の比較には、カテゴリー変数値に対してはFisherの直接確率検定もしくは χ^2 検定、連続変数値に対してはMann-Whitney U検定を用いた。両側P値<0.05を有意差ありと定義した。

【結果】肝切除症例の対象疾患は肝細胞癌が10例(48%)と最も多くを占めた。測定したEA値の中央値は0.32(範囲:0.05-0.59)であり、EA低値群は12例(57%)、EA高値群は9例(43%)であった。両群間で比較すると、周術期因子では術前クレアチニン値および術後血中乳酸値がEA高値群で有意に高かった(各々P=0.017, P=0.042)。術後合併症はEA低値群で4例(33%)、EA高値群で8例(89%)であり、EA高値群で高頻度に認められた(P=0.024)。EA低値群の合併症の内訳は胆汁瘻が1例、乳糜漏が1例、胃内容排出遅延が1例、創し開が1例であったのに対し、EA高値群では手術部位感染が4例、イレウスが2例、誤嚥性肺炎が1例、カテーテル感染が1例と多くが感染性合併症であった。感染性合併症の発症率を比較すると、EA低値群では0例(0%)に対し、EA高値群では6例(66.7%)と高頻度に認められた(P=0.002)。イレウス合併の2例ではBTを発症していたと考えられ、BT発症率は肝切除症例全体で9.5%(2/21)、EA高値群で22%(2/9)であった。感染性合併症およびBTの発症率はEA低値群では0%(0/12)に対し、EA高値群では89%(8/9)と高頻度であった(P<0.001)。

【結語】肝切除後症例では、高頻度に高エンドトキシン血症を認めた。血中エンドトキシンの新しい測定法であるEAAは、肝切除後の感染性合併症およびBT発症の早期予測指標として有用である可能性が示された。

キーワード：エンドトキシン，肝切除術，Endotoxin Activity Assay，
Bacterial Translocation

緒 言

肝硬変などの背景疾患を有する肝切除では術後感染症が多く発症し、原疾患の予後を大きく左右するため、その克服は重要な課題である。しかし、術後感染症治療において感染源が不明である病態はしばしば経験することであり¹⁾、その中でもBacterial translocation (BT)は敗血症に進展する場合もあり、無視できない合併症である。BTは腸内細菌やエンドトキシンが腸管壁を通過して正常な生体組織へ移行する状態と定義され²⁾³⁾、腸管の常在細菌叢の破綻、腸管バリア機能の障害、宿主の免疫能低下などを原因として生じる²⁾⁻⁴⁾。肝胆膵領域の外科手術では、肝硬変、閉塞性黄疸、糖尿病などを合併している症例が多く、代謝栄養障害に起因する網内系機能異常が生体防御機構の破綻を引き起こし、BTが生じやすいと言われて⁵⁾。特に肝切除後には、門脈圧亢進による腸管うっ血に起因する腸管粘膜障害・透過性亢進が

生じ、さらに肝内の網内系機能低下によりBT由来の細菌を完全には捕捉できなくなり、細菌が容易に大循環系に移行しやすい状態となるため、特にBT発症に留意しなければならない。BTの診断のためには、①他の感染源が証明されないこと、②腸間膜リンパ節培養が陽性、あるいは血液・腹水や臓器(肝・脾)での検出細菌が腸管細菌と同一であること、③腸管粘膜内の細菌を顕微鏡下に確認することの3条件のうち、①の条件下に、②あるいは③が証明されることが必要とされる⁶⁾。しかし、実際の臨床において、腸間膜リンパ節や腸管粘膜内の細菌を同定することは困難であり、血液培養や血液中エンドトキシン濃度などの測定を行うことで間接的にBTと判断せざるを得ない⁷⁾。

エンドトキシンは腸内常在菌であるグラム陰性桿菌細胞壁のリポ多糖(Lipopolysaccharide:LPS)であり、従来から種々の方法で血中濃度が測定されてきたが、測定手技が煩雑であり精度に限界があるといった問題点が指摘されてきた⁸⁾⁻¹⁰⁾。近年、

エンドトキシンの新しい測定法として全血で測定可能な化学発光法による Endotoxin Activity Assay (EAA) が臨床応用されている。EAA は血液中のエンドトキシン濃度に応じて免疫複合体を形成させ、それに反応した患者の好中球・補体から産生される活性酸素を測定することで、Endotoxin Activity Level (EA 値) を算出する⁹⁾¹¹⁾。近年、この新規バイオッセイを用いて敗血症を中心とした様々な病態の評価が行われている⁵⁾⁷⁾¹⁰⁾。

肝切除後には高エンドトキシン血症が発生しやすいと言われているが、EAA を用いた EA 値の測定により肝切除後の病態を評価した報告はわずかであり、その意義について明らかではない⁷⁾。本研究では、EAA を用いて EA 値を測定し、EAA が肝切除術後の感染性合併症や BT の診断に有用かどうかを明らかにする。また、その他の周術期因子と EA 値との関連も検討する。

対象と方法

対象

2015 年 4 月から 11 月までに新潟大学医歯学総合病院消化器外科で肝切除術が施行された 21 例

を本研究の対象とした。

EAA による EA 値測定方法

EA 値は術後第 1 病日目の採血で得られた検体により測定した。本法の測定原理は、試薬の抗 LPS モノクローナル抗体を検体に加えてエンドトキシン-抗エンドトキシン抗体-補体免疫複合体を形成させ、その免疫複合体と患者由来の好中球が反応することで生じる活性酸素を試薬に含まれるルミノールとの化学発光として検出し、血中エンドトキシンレベルを求めるものである(図 1)。添加したザイモサンは好中球にとりこまれ、活性酸素の産生を増強する。

EA 値は (チューブ 2 の化学発光量 - チューブ 1 の化学発光量) / (チューブ 3 の化学発光量 - チューブ 1 の化学発光量) として計算した。チューブ 1 にはザイモサンとルミノールのみが入っており、ネガティブコントロールとした。チューブ 2 には抗 LPS モノクローナル抗体、ザイモサン、ルミノールが入っており、検体中のエンドトキシン量が反映される。また、チューブ 3 には、過剰量の LPS (濃度 4,600 pg/mL)、抗 LPS モノクローナル抗体、ザイモサン、ルミノールが入っており、

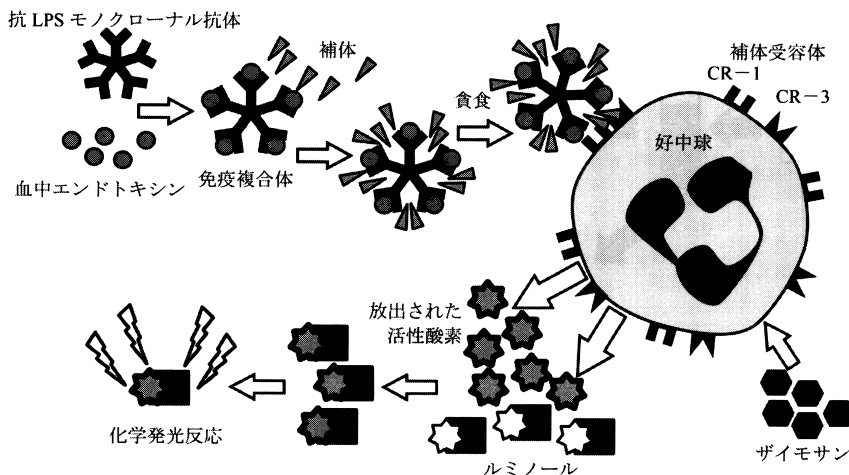


図 1 Endotoxin Activity Assay (EAA) の反応原理

血中エンドトキシンと抗リポ多糖 (Lipopolysaccharide : LPS) モノクローナル抗体が結合し免疫複合体を形成し、これに補体が結合することでオプソニン化される。この免疫複合体を取り込んだ好中球が活性酸素を産生する。この活性酸素をルミノールと反応させ、化学発光として検出する。添加したザイモサンも好中球に取り込まれ、活性酸素を増強する。

ポジティブコントロールとして用いた。(図2)。各々のチューブにおける活性酸素量を吸光度計(Smart Line TL, Berthold Detection Systems, Germany)を用いて化学発光量を自動計測することにより測定した。

周術期因子(術前・術中・術後)と術後合併症

対象症例をEA低値群(EA値 < 0.4)とEA高値群(EA値 ≥ 0.4)の2群に分類し、両群間で患者背景および周術期因子、術後合併症に関して比較を行った。患者背景及び術前因子として、年齢、性別、術前血液生化学検査(白血球数、好中球数、総ビリルビン値、直接ビリルビン値、間接ビリルビン値、血清総蛋白、血清アルブミン値、プロトロンビン時間、インドシアニングリーン15分値、インドシアニングリーン血漿消失率、Child-Pugh score、肝動脈化学塞栓術を含めた術前化学療法の有無を調べた。また、術中因子としては、術式、肝切除量、手術時間、麻酔時間、出血量、術中輸血量、術中アルブミン製剤使用量、間欠的肝流入血遮断回数、肝流入血総遮断時間を

調べた。

術後因子に関しては、術後第1病日にEA値測定用の検体を用いて、C反応性蛋白(C-reactive protein:CRP)値、プロカルシトニン(procalcitonin:PCT)値、血中乳酸値を測定した。また、同一検体で白血球数、好中球数を測定し、それらから術前値を差し引いた値を Δ 白血球数、 Δ 好中球数として算出した。さらに、アスパラギン酸アミノ基転移酵素(Aspartate transaminase:AST)値、アラニンアミノ基転移酵素(Alanine transaminase:ALT)値、総ビリルビン値、血清クレアチニン値、血液尿素窒素値、推算糸球体濾過量(estimate glomerular filtration rate:eGFR)は術後14日以内の最高値から術前値を差し引いた値をそれぞれ Δ AST、 Δ ALT、 Δ 総ビリルビン値、 Δ 血清クレアチニン値、 Δ 血液尿素窒素、 Δ 推算糸球体濾過量として算出した。プロトロンビン時間は術後14日以内の血液検査データ中の最低値を用いた。さらに、ドレーン留置期間、術後在院日数、術後30日以内の合併症の内容を診療録より抽出した。尚、合併症の重症度の記載は

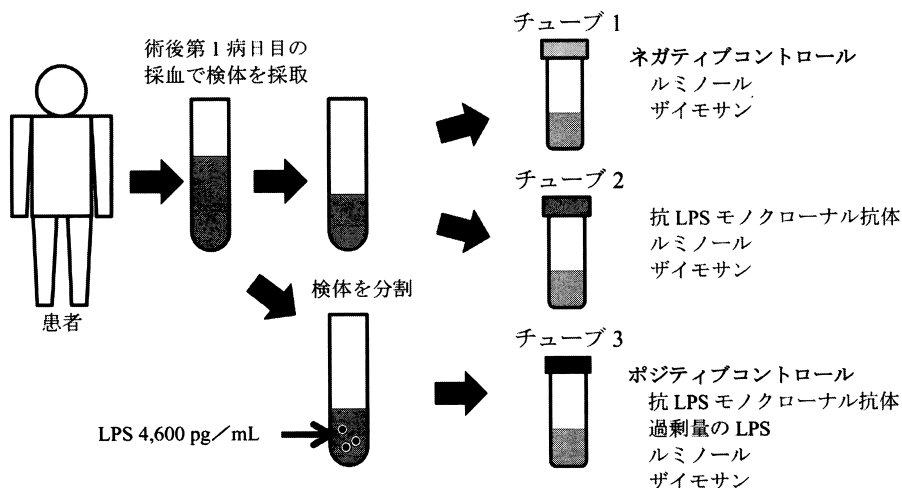


図2 Endotoxin Activity Assay (EAA) による Endotoxin Activity Level (EA 値) の測定方法

チューブ1は、ネガティブコントロールでルミノール、ザイモサンのみ、チューブ2は検体、チューブ3はポジティブコントロールであり、チューブ2、3は、各々抗エンドトキシン抗体、ルミノール、ザイモサンを含む。チューブ1、2には全血を加え、チューブ3には過剰のリポ多糖(Lipopolysaccharide:LPS)(濃度4,600 pg/mL)を添加した血液を加えて反応を行う。各々のチューブにおける活性酸素量を、吸光度計を用いて化学発光量を計測することによりEA値として測定した。

Clavien-Dindo 分類¹²⁾¹³⁾に従った。

統計学的解析

2群間の比較において、カテゴリ変数値に対しては Fisher の直接確率検定もしくは χ^2 検定、連続変数値に対しては Mann-Whitney U 検定を用いた。統計学的解析には SPSS statistics 24 (IBM Japan, Tokyo, Japan) を使用し、両側 P 値 < 0.05 を有意差ありと定義した。

結 果

対象とした 21 例の年齢の中央値は 66 (範囲: 37-88) 歳、性別は男性 15 例、女性 6 例であった。これらの対象症例の疾患の内訳は、肝細胞癌が 10 例 (47%)、転移性肝腫瘍 6 例 (28%)、

肝門部胆管癌が 2 例 (10%)、肝内胆管癌が 1 例 (5%)、胆嚢癌が 1 例 (5%)、肝内結石が 1 例 (5%) であった。21 例に対する肝切除術式の内訳は、肝部分切除が 10 例 (47%)、肝垂区域切除が 2 例 (10%)、肝区域切除が 2 例 (10%)、肝右葉もしくは肝左葉切除が 7 例 (33%) であった。三区域以上の肝切除は実施されていない。全症例の EA 値の中央値は 0.32 (0.05-0.59) であり、EA 低値群は 12 例 (57%)、高値群は 9 例 (43%) であった。

EA 低値群と EA 高値群とにおける患者背景および周術期因子の比較

EA 高値群は EA 低値群と比較して術前クレアチニン値が有意に高かった (P = 0.017; 表 1)。その他の術前血液生化学検査値、インドシアニン

表 1 EA 低値群と EA 高値群との比較：患者背景と術前因子

項目	症例数		P 値
	EA 低値群 (n=12)	EA 高値群 (n=9)	
年齢 (歳)	66 (57-79)	67 (37-88)	0.803
性別 (男/女)	7/5	8/1	0.178
術前血液生化学検査			
白血球数 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4.90 (1.45-11.46)	5.48 (4.33-8.65)	0.118
好中球数 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2.68 (0.52-9.31)	3.31 (2.44-5.34)	0.286
血清クレアチニン値 (mg/dL)	0.72 (0.40-9.71)	0.85 (0.66-1.63)	0.017
eGFR (mL/min/1.73m ²)	86.71 (4.60-117.89)	76.17 (4.60-117.89)	0.065
総ビリルビン値 (mg/dL)	0.9 (0.3-1.4)	0.8 (0.4-1.0)	0.268
直接ビリルビン値 (mg/dL)	0.1 (0.0-0.4)	0.1 (0.1-0.2)	>0.999
間接ビリルビン値 (mg/dL)	0.6 (0.1-1.0)	0.6 (0.1-0.9)	0.854
血清総蛋白 (mg/dL)	6.8 (5.7-7.7)	7.6 (7.6-8.6)	0.051
血清アルブミン (mg/dL)	3.9 (2.6-4.5)	4.2 (3.1-4.7)	0.054
プロトロンビン時間 (%)	90 (63-114)	92 (24-107)	0.670
PT-INR	1.06 (0.94-1.2)	1.04 (0.59-2.34)	0.569
ICG R15 (%)	10.7 (0.0-29.0)	11.0 (1.3-26.0)	0.618
ICG K 値	0.140 (0.037-0.336)	0.134 (0.088-0.211)	0.499
Child-Pugh score	5 (5-7)	5 (5-7)	0.773
化学療法 (あり/なし)	2/10	3/6	0.603

EA 低値群：Endotoxin Activity Level < 0.4 であった症例群

EA 高値群：Endotoxin Activity Level \geq 0.4 であった症例群

eGFR：推算糸球体濾過量

PT-INR：プロトロンビン時間 国際標準比

ICG R15：インドシアニングリーン 15 分値

ICG K 値：インドシアニングリーン血漿消失率

表2 EA 低値群と EA 高値群との比較：術中因子

項目	症例数		P 値
	EA 低値群 (n=12)	EA 高値群 (n=9)	
術式			
部分切除	5	5	
亜区域切除	1	1	
区域切除	2	0	
右葉または左葉切除	4	3	
手術時間 (min)	437 (329-769)	575 (128-749)	0.177
麻酔時間 (min)	570 (421-882)	460 (220-850)	0.155
出血量 (mL)	1127 (395-3995)	575 (145-3055)	0.227
術中輸血量 (mL)	140 (0-3600)	0 (0-560)	0.179
術中アルブミン製剤使用量 (mL)	0 (0-500)	0 (0-750)	0.302
間欠的肝流入血遮断回数 (回)	5 (0-12)	5 (0-6)	0.326
肝流入血総遮断時間 (min)	74 (0-173)	80 (0-90)	0.349

EA 低値群：Endotoxin Activity Level < 0.4 であった症例群
EA 高値群：Endotoxin Activity Level ≥ 0.4 であった症例群

表3 EA 低値群と EA 高値群との比較：術後因子

項目	症例数		P 値
	EA 低値群 (n=12)	EA 高値群 (n=9)	
C 反応性蛋白値 (mg/dL)	4.55 (2.50-12.38)	6.91 (2.28-9.46)	0.320
プロカルシトニン値 (ng/mL)	0.52 (0.31-6.49)	0.81 (0.14-1.79)	0.856
血中乳酸値 (mg/dL)	1.5 (1.0-4.3)	2.9 (1.1-3.7)	0.042
△白血球数 (×10 ³ /μL)	6.23 (-0.04-11.96)	7.25 (2.99-10.82)	0.286
△好中球数 (×10 ³ /μL)	6.37 (1.63-12.67)	8.22 (3.60-10.85)	0.320
△AST 値 (mg/dL)	380 (58-852)	198 (72-602)	0.320
△ALT 値 (mg/dL)	289 (60-835)	196 (52-557)	0.136
△総ビリルビン値 (mg/dL)	0.4 (-0.7-5.0)	0.7 (0.2-1.4)	0.521
△血清クレアチニン値 (mg/dL)	0.03 (-0.18-0.73)	0.14 (-0.06-0.77)	0.135
△血液尿素窒素値 (mg/dL)	2.5 (-13.6-12)	3.0 (-7.0-20.0)	0.148
△eGFR (mL/min/1.73m ²)	-1.11 (-18.85-50.34)	-10.47 (-35.38-7.61)	0.155
プロトロンビン時間 (%)	61 (22-99)	57 (25-83)	0.644
ドレーン留置期間 (日)	8 (3-29)	6 (0-50)	0.174
術後在院日数 (日)	17 (10-126)	19 (10-111)	0.887

EA 低値群：Endotoxin Activity Level < 0.4 であった症例群

EA 高値群：Endotoxin Activity Level ≥ 0.4 であった症例群

AST：アスパラギン酸アミノ基転移酵素

ALT：アラニンアミノ基転移酵素

eGFR：推算糸球体濾過量

グリーン検査結果, Child-Pugh score, 術前化学療法施行の頻度に関しては, 両群間で明らかな差を認めなかった (表 1).

術中因子に関しては, いずれも両群間で明らかな差を認めなかった (表 2). 術後の血液生化学検査では, 血中乳酸値のみが EA 高値群で有意に高かった ($P = 0.042$; 表 3). その他の術後因子に関しては, 両群間で明らかな差を認めなかった (表 3).

EA 低値群と EA 高値群とにおける術後合併症の比較

術後合併症は 21 例中 12 例 (57%) で認められた. 術後 30 日以内の死亡症例は認められず, 全例が軽快退院した. 術後合併症については, EA 低値群が 12 例中 4 例 (33%), EA 高値群が 9 例中 8 例 (89%) であり, EA 高値群で合併症発症率が有意に高かった ($P = 0.024$; 表 4). 合併症の内訳は, EA 低値群では胆汁瘻が 1 例,

乳糜漏が 1 例, 胃内容排出遅延が 1 例, 創し開が 1 例であった. EA 高値群では手術部位感染が 4 例, イレウスが 2 例, 肺炎が 1 例, カテーテル感染が 1 例であった. EA 低値群と EA 高値群との間で, 個別の合併症の頻度に明らかな差を認めなかった (表 4). 治療のために再手術が必要であった症例は, 創し開の 1 例とイレウスの 1 例のみであった. Clavien-Dindo 分類は, EA 低値群では合併症を認めなかった症例が 8 例, Grade I が 0 例, Grade II が 1 例, Grade III が 3 例であった. EA 高値群では合併症を認めなかった症例が 1 例, Grade I が 3 例, Grade II が 4 例, Grade III が 1 例であった. Grade IV 以上の合併症はいずれの群でも認められなかった. EA 低値群で合併症を認めなかった症例が占める頻度が高く, 一方, EA 高値群で Grade I-II の症例が占める頻度が高かった ($P = 0.011$; 表 4). 発症に感染が明らかに関係している手術部位感染, カテーテル感染および肺炎を「感染性合併症」としてまとめると,

表 4 EA 低値群と EA 高値群との比較：術後合併症

合併症	症例数		P 値
	EA 低値群 (n=12)	EA 高値群 (n=9)	
合併症 (あり/なし)	4/8	8/1	0.024
内訳			
手術部位感染	0	4	0.208
イレウス	0	2	0.515
カテーテル感染	0	1	>0.999
肺炎	0	1	>0.999
胆汁瘻	1	0	0.333
乳糜瘻	1	0	0.333
胃内容排出遅延	1	0	0.333
創し開	1	0	0.333
Clavien-Dindo 分類			0.011
合併症なし	8	1	
Grade I-II	1	6	
Grade III	3	2	
感染性合併症	0	6	0.002
感染性合併症+イレウス	0	8	<0.001

EA 低値群：Endotoxin Activity Level < 0.4 であった症例群

EA 高値群：Endotoxin Activity Level ≥ 0.4 であった症例群

感染性合併症：手術部位感染, カテーテル感染, 肺炎の合計

感染性合併症はEA低値群で12例中0例(0%)であったのに対しEA高値群では9例中6例(66.7%)で認められており、EA高値群において有意にその頻度が高かった($P = 0.002$;表4)。また、EA高値群のイレウス発症例ではBTを併発していたと考えられ、BT発症率は肝切除症例全体で9.5%(2/21)、EA高値群で22%(2/9)であった。したがって、感染性合併症およびBTの発症率は、EA低値群で12例中0例(0%)であったのに対しEA高値群で9例中8例(89%)であり、EA高値群で高頻度であった($P < 0.001$)。

考 察

血中のエンドトキシン測定は、従来カプトガニ血液抽出液由来のリムルス試薬を用いたリムルステストが使用されてきた¹¹⁾¹²⁾。これはカプトガニ血液の細菌に対する凝集反応を元に開発されたものであるが、血中にはエンドトキシン阻害物質が多数存在すること、多段階の生物学的カスケードを経由した測定値であること、このカスケードは β -D-グルカンによっても惹起されることなどから、精度に限界があった¹⁴⁾¹⁵⁾。また、日常臨床では外注検査であるため、結果を得るまでに時間を要する(2-4日)ことも問題であった。そこでRomaschinらによって、上記の問題を克服するため、全血でエンドトキシンを検出するEAAが開発された⁹⁾¹⁶⁾。

EAAで用いる主な試薬はLPSを構成する3種類の構造物のうちのリピドAに対するモノクローナル抗体であり、そのためエンドトキシンに特化した測定ができることが特徴である。リピドAは多様性を持ったグラム陰性菌のLPS中でも構造共通性の高い活性部位である¹⁷⁾。また、EAAは測定時間が約30分と従来のリムルステストに比べ圧倒的に短時間で測定可能であり、操作も簡便で、リアルタイムの評価が可能であることから有用な測定法と言われている⁹⁾。EAAの測定精度は北米および欧州の10施設857例の検討¹⁶⁾などで証明されており、これらの国ではEA値は敗血症性ショック患者へのエンドトキシ

ン吸着療法導入の基準にもなっている¹⁴⁾¹⁶⁾⁻²⁰⁾。また、EA値の基準は健常者97例の検査、術後敗血症患者の検査結果から低値(< 0.4)、中等値(0.4-0.6)、高値(> 0.6)に統合されている¹⁰⁾¹⁶⁾。本邦におけるEAA使用経験では健常者群でEA値が0.6を超える報告は無かったこと¹⁰⁾¹¹⁾、ICU入室症例や急性胆道感染症患者においてEA値が0.4未満と0.4以上とで重症度に差があるという複数の報告があることから¹⁸⁾²¹⁾²²⁾、本研究ではEA値のカットオフ値を0.4として解析した。

本研究の対象症例では多くが肝硬変や悪性疾患による閉塞性黄疸を認めていた。肝硬変、閉塞性黄疸などを合併している場合、代謝栄養障害に起因する網内系機能の破綻を引き起こし、BTが生じやすいと報告されている⁶⁾²³⁾。さらに、BTによって引き起こされるエンドトキシン血症が、肝の微小循環障害を助長し²⁴⁾、様々なマクロファージを活性化し、TNF等の炎症性サイトカインを産生させ、肺、腎などの重要臓器の障害を引き起こす²⁵⁾。また、肝切除後や、肝移植後には、急激な門脈圧亢進による腸管うっ血に起因する腸管粘膜傷害・透過性亢進が生じ、さらに、肝内の網内系機能低下によりBT由来の細菌が完全には補足されにくくなり、大循環系に移行しやすい状態となることが知られている¹⁾²⁶⁾。特に、閉塞性黄疸の病態下では腸管上皮細胞間の接着が低下し、BTが生じやすくなるだけではなく⁷⁾、肝内のKupffer細胞のエンドトキシンに対する被興奮性が高まり、生体のダメージが受けやすい状態となる⁷⁾。これに加えて、胆汁外瘻等の処置を伴う場合、胆汁と共に腸肝循環する分泌型IgAの喪失により腸管の局所免疫能が低下し、BT発症の原因となる⁶⁾²⁶⁾。本研究においてEA低値群とEA高値群とを比較したところ、肝硬変の重症度や血中ビリルビン値などの術前因子、急激な門脈圧亢進の要因となる肝切除量や肝流入血遮時間などの術中因子に差を認めなかった。その理由として、1)対象症例が比較的肝障害の軽度なChild-Pugh A, B症例に限られたこと、2)閉塞性黄疸合併例では術前に適切なドレナージが施行されて治療されていたこと、3)EA値の測定のタイミ

ングが術後第1病日目であるため術前状態を正確に反映していないこと、4) 肝予備能が低下した症例では、過大侵襲を避けるため部分切除などの適切な縮小手術が選択されていたことなどが挙げられる。重症な肝硬変患者では既に術前からBTを合併しているとの報告もあり⁵⁾、術前のBT合併症例を除外する意味でも肝切除前のEA値を測定すべきであったと考える。

術後因子の比較において、血中乳酸値のみがEA高値群においてEA低値群より有意に上昇していた。血中乳酸値は嫌氣的解糖の最終代謝産物であり、臓器虚血といった循環不全の病態では血中乳酸値が上昇する。血中乳酸値は現在、最も信頼のおける組織酸素代謝の指標と考えられている。生体に対するエンドトキシンの多彩な作用はエンドトキシンの直接的な作用によるものではなく、エンドトキシンの刺激を受けた種々の細胞から産生されるhumoral mediatorsを介して引き起こされることが明らかになりつつある^{27)–29)}。エンドトキシンによって刺激を受けた単球-マクロファージ、血管内皮細胞、好中球などから産生されるサイトカインなどの作用により全身的な過剰炎症(systemic inflammatory response syndrome: SIRS)が惹起され、血圧低下、微小循環障害から細胞障害、さらに急性腎不全や急性呼吸不全といった臓器障害が引き起こされる²⁹⁾。SIRSによる臓器障害、血中乳酸値上昇は臨床的にも確認されており³⁰⁾、血中乳酸値の上昇はこれら微小循環障害や臓器障害を反映しているものと思われる。また、炎症・感染症のマーカーである白血球数、CRP値、PCT値に関しては、本研究ではEA低値群とEA高値群とで明らかな差は認められなかったが、これらのマーカーとEA値との関連が認められたとの報告³¹⁾もあり一定の見解は得られていない。ただし、EA値との関連があるとする報告³²⁾では、主な対象疾患が重症感染症、敗血症であり、今回対象の肝切除症例においては、そのような重篤な感染性合併症は発症しなかったことも一因として考えられる。

術後合併症に関しては、本研究ではEA低値群と比較してEA高値群で頻度が高く、その大部分

を感染性合併症が占めていた。感染性合併症は全例Clavien-Dindo分類においてGrade I–IIの比較的軽症に分類されていたが、EAAにより早期診断に結びついた可能性が考えられる。また、腸閉塞を合併した2例ともEA値が高値を示していたが、腸閉塞に伴う腸管の常在細菌叢の破綻や、腸管バリア機能の障害などによってBTが起きていた可能性が考えられる。したがって、EA高値は手術部位感染症をはじめとした術後感染性合併症、および腸閉塞などにおけるBT合併の早期診断の指標として有用であることが示唆された。術後EA値が高い症例においては術後感染性合併症やBTの発生に対して特に注意した管理が必要であり、必要に応じて迅速な治療介入を実施すべきであると言える。EAAの術後合併症の早期予測指標としての有用性については、大腸癌の手術症例や腹膜炎の緊急手術症例において報告されている^{32) 33)}が、肝切除症例についての報告はない。本研究は、肝切除症例におけるEAA測定が術後合併症の早期予測指標として有用である可能性を初めて明らかにした。

一方、本研究においてはいくつかの点で限界がある。まず、対象として症例数が21例と少ないことである。また、測定のタイミングが術後第1病日目の1回のみであったため、対象症例の中に術前からの高エンドトキシン症例が含まれていた可能性がある。今後、研究を継続していくにあたり、術前のEA値を測定して術後のEA値と比較すべきである。また、EAAが術後感染性合併症やBTの治療効果判定に使用可能かどうかについても、今後の検討で明らかにしていく必要がある。

結 論

肝切除症例は高率に術後高エンドトキシン血症を呈しており、多くは感染性合併症を反映しているが、一部の症例ではBTによる高エンドトキシン血症を反映している。EAAによる血中エンドトキシン測定は、肝切除症例において感染性合併症、BT発生の早期予測指標として有用である可能性が示された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野、若井俊文教授、小林隆講師、坂田純講師に深謝いたします。

文 献

- 1) 内田恵一, 井上幹大, 大竹耕平, 小池勇樹, 安田裕美, 高橋琢也, 三木誓雄, 楠 正人: Bacterial translocationと敗血症. 小児内科 39: 1206-1209, 2007.
- 2) Llovet JM, Bartolí R, Planas R, Cabré E, Jimenez M, Urban A, Ojanguren I, Arnal J and Gassull MA: Bacterial translocation in cirrhotic rats. Its role in the development of spontaneous bacterial peritonitis. Gut 35: 1648-1652, 1994.
- 3) Berg RD and Owens WE: Inhibition of translocation of viable Escherichia coli from the gastrointestinal tract of mice by bacterial antagonism. Infect Immun 25: 820-827, 1979.
- 4) Fink MP: Gastrointestinal mucosal injury in experimental models of shock, trauma, and sepsis. Crit Care Med 19: 627-641, 1991.
- 5) 川村英伸, 佐々木亮孝, 遠藤重厚, 須藤隆之, 島田 裕, 村上雅彦, 新田浩幸, 舩渡 治, 斎藤和好: 肝胆脾周術期におけるエンドトキシン値からみた bacterial translocation の検討. 外科と代謝・栄養 33: 53-60, 1999.
- 6) 花澤一芳, 谷 徹, 遠藤善祐, 来見良誠: Bacterial translocation 発生病態と臨床報告. 救急医学 27: 1598-1609, 2003.
- 7) 武田和永, 諏訪雄亮, 遠藤 格: Bacterial translocation 肝手術後のピットフォール. 医学のあゆみ 251: 89-93, 2014.
- 8) Imai T, Shiga T, Saruki N, Nishikawa K, Fujita T and Morishita Y: Change in plasma endotoxin titres and endotoxin neutralizing activity in the perioperative period. Can J Anaesth. 43: 812-819, 1996.
- 9) Romaschin AD, Harris DM, Ribeiro MB, Paice J, Foster DM, Walker PM and Marshall JC: A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. J Immunol Methods 212: 169-185, 1998.
- 10) 遠藤重厚, 佐藤信博, 鈴木 泰, 小鹿雅博, 高橋 学, 八重樫泰法: 新しいエンドトキシン測定法 (Endotoxin Activity assay) の有用性と問題点. ICUとCCU 31: 407-410, 2007.
- 11) 安宅一晃, 嶋岡英輝, 西 信一: 化学発光法を用いた Endotoxin Activity Assay (EAA) の検討. ICUとCCU 31: 445-452, 2007.
- 12) Dindo D, Demartines N and Clavien PA: Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. Ann Surg 240: 205-213, 2004.
- 13) Japan Clinical Oncology Group : JCOG 術後合併症基準 (Clavien-Dindo 分類) ver 2.0 (CTCAE 対比表). < http://www.Jcog.jp/doctor/tool/Clavien_Dindo.html >
- 14) Levin J and Bang FB: The role of endotoxin in the extracellular coagulation of limulus blood. Bull John Hopkins Hosp 115: 265-274. 1964.
- 15) Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM and Parillo JE: Endotoxemia in human septic shock. Chest 99: 169-175, 1991.
- 16) Marshall JC, Foster D, Vincent JL, Cook DJ, Cohen J, Dellinger RP, Opal S, Abraham E, Brett SJ, Smith T, Mehta S and Derzko A: Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: Results of the MEDIC study. J Infect Dis 190: 527-534, 2004.
- 17) Hoffman WD and Natanson C: Endotoxin in septic shock. Anesth Analg 77: 613-624, 1993.
- 18) 松原全宏, 井口竜太, 比留間孝広, 中村謙介, 中島 勤, 片桐大輔, 土井研人, 野入英世: Endotoxin activity assay の急性腎障害および持続的腎代替療法における評価. 日集中医誌 20: 235-242, 2013.
- 19) Novelli G, Ferretti G, Poli L, Pretagostini R, Ruberto F, Perrella SM, Levi S, Morabito V and Berloco PB: Clinical results of treatment of postsurgical endotoxin-mediated sepsis with polymyxin-B direct hemoperfusion. Transplant Proc 41: 1021-1024, 2010.
- 20) Novelli G, Ferretti G, Ruberto F, Morabito V and Pugliese F: Early management of endotoxemia

- using the endotoxin activity assay and polymyxin B-based hemoperfusion. *Contrib Nephrol* 16: 91-101, 2010.
- 21) Sato M, Matsuyama R, Kadokura T, Mori R, Kumamoto T, Nojiri K, Taniguchi K, Takeda K, Kubota K, Tanaka K and Endo I: Severity and prognostic assessment of the endotoxin activity assay in biliary tract infection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 21: 120-127, 2014.
- 22) Ikeda T, Ikeda K, Suda S and Ueno T: Usefulness of the endotoxin activity assay as a biomarker to assess the severity of endotoxemia in critically ill patients. *Innate Immunity* 20: 881-887, 2014.
- 23) Shigeta H, Nagino M, Kamiya J, Uesaka K, Sano T, Yamamoto H, Hayakawa N, Kanai M and Nimura Y: Bacteremia after hepatectomy: an analysis of a single-center, 10-year experience with 407 patients. *Langenbecks Arch Surg* 387: 117-124, 2007.
- 24) Nolan JP: The role of endotoxin in liver injury. *Gastroenterology* 69: 1346-1356, 1975.
- 25) Cavaillon JM and Haeffner-Cavaillon N: Signals involved in interleukin 1 synthesis and release by lipopolysaccharide-stimulated monocytes/macrophages. *Cytokine* 2: 313-329, 1990.
- 26) Lorenzo-Zúñiga V, Bartolí R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V and Gassull MA: Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 37: 551-557, 2003.
- 27) Guarner C, Soriano G, Tomas A, Bulbena O, Novella MT, Balanzo J, Vilardell F, Mourelle M and Moncada S: Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18: 1139-1143, 1993.
- 28) Nathan CF: Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 79: 319-326, 1987.
- 29) Clark IA and Vissel B: The meteorology of cytokine storms, and the clinical usefulness of this knowledge. *Semin Immunopathol* 39: 505-516, 2017.
- 30) Vitorio D and Maciel AT: Acute Kidney Injury Induced by Systemic Inflammatory Response Syndrome is an Avid and Persistent Sodium-Retaining State. *Case Rep Crit Care* 2014: 471658, 2014.
- 31) Yaguchi A, Yuzawa J, Klein DJ, Takeda M and Harada T: Combining intermediate levels of the Endotoxin Activity Assay (EAA) with other biomarkers in the assessment of patients with sepsis: results of an observational study. *Crit Care* 18: R88, 2012.
- 32) 赤堀浩也, 清水智治, 三宅 亨, 山口 剛, 園田寛道, 塩見尚礼, 仲 成幸, 村田 聡, 山本 寛, 小幡 徹, 遠藤善裕, 谷 徹: 消化器外科手術での Endotoxin activity assay (EAA) の変動に関する検討. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 16: 93-102, 2012.
- 33) 細井 愛: 腹膜炎に対する緊急手術後の合併症予測における Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性. 新潟医学会雑誌 130: 351-360, 2016.

(平成 29 年 11 月 7 日受付)