



Title	Exdotoxemia is masked in fungal infection due to enhanced endotoxin clearance by β -glucan
Author(s)	横田, 雅之
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37388
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・（本籍）	よこ	た	まさ	ゆき
	横	田	雅	之
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9	4	2
		3		号
学位授与の日付	平	成	2	年
	12	月	4	日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Endotoxemia is masked in fungal infection due to enhanced endotoxin clearance by β -glucan (敗血症における β グルカンのエンドトキシン・クリアランスに対する効果—新しいエンドトキシン・ β グルカン分別定量法の応用)			
論文審査委員	(主査)			
	教授	森	武貞	
	(副査)			
	教授	井上	公蔵	教授 古矢 生人

論文内容の要旨

〔目 的〕

グラム陰性菌由来のエンドトキシン（ET）および真菌由来の β グルカン（BG）は、いずれも Limulus amoebocyte lysate（LAL）に対する反応性を有し、両者の分別定量についてはいまだ十分に確立された方法はない。そこで本研究では、注射剤など水溶液中のパイロジェン検出に用いられている比濁時間分析機器を用いて、これに応用可能な血液検体処理法と分別定量法について検討した。

また、重症感染症患者について、この分別定量法を用いてETおよびBGを同時測定したところ、BG異常高値の際にETは低値を示す傾向が認められた。

この理由として網内系賦活作用のあるBGがETクリアランス（血中消失）を促進する可能性が考えられ、この点について家兎を用いて実験的検討を行った。

さらに、血中ETの上昇を示す家兎敗血症モデルを用いて、BG投与が実際に血中ETを減少させ臓器障害を抑制するかどうかを検討した。

〔方法ならびに成績〕

(1) ETおよびBGの分別定量

- 1) 測定機器と血液検体処理法：ETあるいはBGとLALとのゲル化反応の定量には比濁時間分析機器（トキシノメーターET-201，和光純薬）を使用した。また、血中のゲル化反応阻害因子除去法として希釈加熱法について検討した。その結果、血漿検体を蒸留水で10倍希釈後100℃にて10分間加熱処理することにより、ETは5 pg/ml以下、BGは50 pg/ml以下の感度で測定が可能であり、また回収率もそれぞれ90%以上であった。

2) BGの特異的定量：BGの強い熱安定性を利用して、加熱により両者の分別定量が可能かどうかを検討した。ヒト血漿中にETあるいはBG（1 ng/ml）を添加し10倍希釈した後、100℃にて加熱したところ、ETが120分の加熱処理によりほとんど活性を失うのに対して、BGには活性の低下が認められなかった。すなわち血漿検体の10倍希釈100℃、120分加熱処理によりETのみが不活化され、BGの特異的定量が可能となった。

3) ETの特異的定量：LAL反応系に大過剰のBGが共存すると、ゲル化が起こらなくなる一方、ETとは同様にゲル化反応を起こすことが水溶液の系で報告されており、この現象が血漿検体においても認められETの特異的定量に応用可能かどうかを検討した。その結果、血漿中ETに1 mg/ml以上のBGが共存する場合、ETのLALゲル化活性はBG非存在下と同様であった。従って、このような大過剰のBGが共存するLALは、ETとは同様に反応するが新たに加えられたBGとは反応せず、これを用いることによりETの特異的定量が可能となった。

4) 重症感染症患者における血漿中ETおよびBG：重症感染症患者の血漿で、ETとBGの分別定量法を行ったところ、真菌感染症ではBGが高値となり、グラム陰性菌感染症ではET高値となる傾向が認められた。しかし、両者の混合感染では、BG異常高値の場合にはETは低値を示す傾向が認められた。

(2) ETクリアランスに対するBGの効果

血中に存在するBGが、その網内系賦活作用によりETクリアランスを促進し、BG異常高値の際のET低値をもたらすことが考えられたため、以下の実験を行った。家兎にETを4 $\mu\text{g/kg}$ 静注後1, 3, 5, 10, 20, 30, 60分後に採血し、前述の方法にて血漿中ET濃度を測定し二相性の血中消失カーブを得た。これに、BGとしてCMカードランあるいはレンチナンを4 $\mu\text{g/kg}$ あるいは40 $\mu\text{g/kg}$ をETと同時にあるいは120分前に投与したところ、CMカードラン、レンチナンともに第二相の消失半減期を有意に減少させ、その効果は前投与で大きかったことから、BGはおそらくその網内系賦活作用を介して、ETクリアランスの促進作用を示すことが考えられた。

(3) BGの家兎敗血症モデルにおける臓器障害に対する効果

家兎敗血症モデル（総胆管結紮，自家便浮遊液0.5ml総胆管内注入）を用いて、BG（レンチナン1 mg 同時静注）の血中ET濃度、臓器障害に対する効果を検討した。臓器障害の指標として血中のクレアチニン、ビリルビンの他白血球、血小板の測定および硫酸プロタミン試験を、便浮遊液注入後0, 3, 6, 9時間に行った。レンチナン投与により、血中ET濃度の上昇が抑制され、また白血球を除き用いた臓器障害の指標すべてが改善された。

〔総括〕

(1) エンドトキシンの特異的定量が血漿検体の10倍希釈100℃、10分加熱処理と大過剰の β グルカン共存LALを用いて、また β グルカンの特異的定量が10倍希釈100℃、120分加熱によるエンドトキシンの特異的不活化を用いて可能となった。

(2) β グルカンのエンドトキシン・クリアランスに対する促進効果が、 β グルカン異常高値の際のエンドトキシン低値をもたらし、エンドトキセミアが真菌感染の合併により消失する可能性が示唆された。

- (3) 家兎敗血症モデルにおいて、 β グルカン投与によりエンドトキシン上昇の抑制が確認されるとともに臓器障害も改善され、 β グルカンの重症感染症に対する有用性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、血漿中のエンドトキシンおよび β グルカンの分別定量法を確立し、さらにこれを用いて実験的敗血症モデルにおける β グルカンのエンドトキセミア（エンドトキシン・クリアランス）および臓器障害に対する効果を検討したものである。

本法はグラム陰性菌感染と真菌感染の早期における鑑別診断に有効であることが確認され、また β グルカンはエンドトキシン・クリアランスを促進することにより敗血症におけるエンドトキセミアと臓器障害を軽減することが示唆された。

これらの知見は、重症感染症の診断と治療に重要であり、医学博士の学位を授与するに値すると考える。