

## 透析とエンドトキシン

大阪市立大学医学部泌尿器科

山上征二

### はじめに

Endotoxin(ET) は、グラム陰性菌のもつ内毒素である。従来まで細菌による感染症が臨床的に問題視されてきたが、今日、種々の抗生剤の発達により、細菌感染症はかなり防止できるまできた。しかし、宿主側の免疫能の低下や、日和見感染等により、また多臓器不全という病態の発生から、ETに対する関心が持たれるようになってきた。特に、腎不全患者の治療で使われる透析療法では、ETの問題は、急性、慢性を問わず、重要なものになってきた。<sup>(1)</sup> その原因として、ETによる急激なET shock、それに引き続く凝固系異常や、出血傾向など特異な臨床症状の発現。これらを予防することが患者の予後に重要な影響を与えることが判っている。<sup>(2)</sup> さらには、慢性的な影響としては、ETによる種々のCytokineの産生刺激—主として、Interleukin I、やTumor necrosis factor (TNF)の産生は、患者に慢性炎症状態をもたらす。その結果長期透析患者では、退行性病変を招来する結果となる。この2つの経由から、ETの問題を検討する必要があろう。本稿ではETの基礎的部分と、臨床との関係を検討し、その種々の問題点を提起してみたい。

### 1. ETの構造

ETは、通常グラム陰性菌の内毒素と称され、その活性部位は、リビドA部分に局在するとされている。そこでリビドAの化学構造を検討してみたい。グラム陰性菌の細胞膜構造は①外膜 (outer membrane)、②ペプチドグリカン層 (peptidoglycan layer) ③原形質膜 (cytoldasmic membrane) より構成されている。このうちリビドAを含むリボ多糖は、外膜に存在し、その脂質部分と細胞膜外膜のリン脂質二重膜構造を混合ミセルを形成している。

多糖部分は、親水性で、リビドA部分は疎水性であり、いわゆる両親媒性物質である。この性質は、リビドAが会合体を形成しやすくしている。また、リボ多糖やリビドA部分のリン酸基は塩基性物質や、金属イオンと種々の塩を形成し、会合体の形状に影響を及ぼす。このことは、リビド多糖の大きさが一定ではなく、 $1 \times 10^6 \sim 20 \times 10^6$ 迄に分布する原因となっている。さらに、ある至適条件下ではサブユニットに解離し、生物活性をもつリビドAが会離する結果ともなる。分子量的に小さくなったりボ多糖は、全て生物的活性、例えは発熱作用等に変化がみられる。しかし、サブユニットは、また至適条件下会合体に再形成され生物作用を示すことも知られている。

### 2. ETの生物活性

ETのもつ生物活性は多彩なもので生体が、進化する過程のなかで絶えずETをもつ細菌による侵襲と、それに対する防御の結果をもたらされてきてものだと解されている。

その主なものを表-1に示している。

大きくわけてETには、生体にとって障害的に作用する部分と、むしろ生体にとって防御的に作用する部分に分けられる。また、その作用を生体レベル、細胞レベル、そして分子レベルと云う3者に分け、その作用を検討することもできる。ETによる生物活性は、一言で云うと非特異的炎症反応と云える。致死活性や凝固系作用による炎症反応が、過剰に進行し、生体恒常性が破綻すると考えられる。しかし、ETに対する特異性には個人差が認められる。この点に関する生体での研究は少ないが、幼若なものの方が成熟したものよりETに対する特異性は高いことが報告されている。<sup>(3)</sup> その原因の詳細は不

明であるが、アレルギー反応の差異によるものと考えられている。一方、ETに対する感受性の亢進は、種々の条件下で認められる。その主なものを述べてみると、

表1 バイロジエンの主な生物活性

No	バイロジエンの活性
1.	発熱活性
2.	致死活性
3.	非特異的抵抗性
4.	血管系に対する作用
I	血圧、心拍数、呼吸数
II	白血球減少および增多作用
III	内因性発熱物質の産生
IV	末梢血管透過性亢進活性
V	エピネフリン増感作用
VI	流産作用
VII	シュワルツマン活性
VIII	骨髓反応
5.	血液凝固系への作用 (凝固因子の産生) カブトガニ血球成分のゲル化活性
6.	免疫系に対する作用
I	Immunogenicity
II	B細胞の活性化
III	マクロファージの活性化
IV	補体の活性化
V	adjuvant 活性
7.	インターフェロン産生作用
8.	抗腫瘍細胞性
9.	代謝異常の誘起性

### 1) 感染によるET感受性亢進

感染を伴う場合、そのET感受性は100～1000倍にも亢進すると報告されている。<sup>(4)</sup>その原因は主にマクロファージの活性化によるものとされている。この症状は臨床的にみた場合、重要な意味をもっており、ET血症を疑う場合、感染巣に対する治療も同時に必要とすることを示唆している。さらに、網内系機能の亢進及び低下に伴い、共にET感受性は亢進することが報告された。従来までETは、生体に入った場合、すみやかに網内系細胞により処理を受け、解毒されるとされている。しかし、網内系細胞機能の亢進によっても、ET感受性が亢進することは、ETが一元的に網内系にあり処理を受けるのでないことを示している。また、ETの生

物活性として重要なものは、発熱とShwartzman反応(sh反応)である。この発熱に関しては、従来までセトボイント説やアミン生体説、イオン説などあったが、近年ETによるIL-1産生による可能性が指摘されている。<sup>(5)</sup>一方sh反応に対してはDICと同様との見方がある。この反応は、局所及び全身に及ぶ止血凝固系の異常と微少循環不全を主としている。これらの原因にETが関与することは、間違いない。そのために、ヘパリン等の抗凝固剤、F O Y等のような蛋白分解酵素、そしてステロイド等の投与により軽減することが知られている。

### 3. ET測定法

多彩な生物活性と、重篤な臨床状をもたらすETを測定することは、重要なことである。現在、ET測定に用いられるのは、Limulus試験である。カブトガニの血色であるヘモシアンに含まれるamebocyteを利用して、細菌内毒素との凝固反応を見るものである。その反応は、図-1に示すように2つの系が存在する。ETによる系を、補体活性化の系と同様classical pathway,  $\beta$ -glucanにより活性化される系をalternative pathwayと称する場合もある。しかし、classical pathwayを活性化する物質にはトリプシン、トロンビン等も存在する。また、ETの種類によっても、その活性化には差があり、糖鎖の長いいわゆるS型ETのE. coliやSalmonellaでは、容易に反応を示すが、R型のETでは、その反応が小さい。

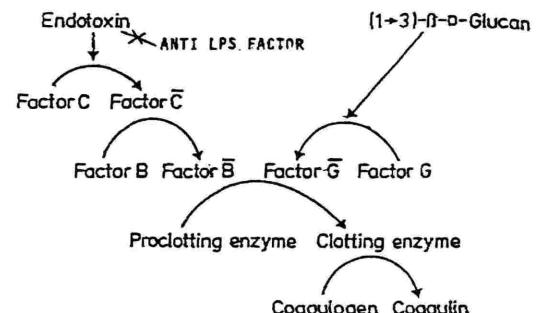


図1 リムルステストの2つの反応系

リムルステストに対し、阻害物質となるものがある。このテストでは操作至適pHを7.2としており、通常pH7付近が良いとされている。従って強酸、アルカリによって反応は阻害を受ける。また、重金属塩、界面活性剤、

蛋白質性剤により阻害を受ける。一方、生体内物質としてはグルコース20%以上、アルブミン、グロブリンは6%以上の濃度で阻害を受ける。このようにリムルステストでの反応亢進阻害物質を考慮して、テストを行う必要がある。

血中阻害物質の除去法としては、①希釈法、10~20倍に血清希釈する②クロロフォルム法、③エーテル法、④加熱法、100° 10分加熱、⑤ゲル濾過法、⑥アルカリ処置法、⑦過塩素酸法、等が考えられている。

一方、リムルステストの測定法としては、比濁法、clot蛋白法、合成基質法、R I 法等が考案され実際に利用されている。しかし先に述べたように、血中阻害物質除去法には未だ確立したものはなく、多くの研究者にとって、健常人や疾患別の血中ET濃度を測定されているが、絶対値としては信頼する値とは云えない。ただ測定条件による相対値としてとらえるべきであろう。

そのような背景から、筆者らはリピドAに対するMonoclonal 抗体によりET濃度を測定する系を考案した。  
(6) その詳細は論文を読んでもらうとして、次に透析患者に於けるETの問題について述べてみる。

#### 4. 透析との関連

DICを初めとして、ETが種々の重篤な疾患と関連あることは述べてきた通りである。しかし、慢性腎不全患者の治療に用いられる透析器材にあっても、ETは重要な意味をもつようになってきた。図-2は透析用水の各点でのET濃度である。ROで低下したETは、イオン交換や、濃厚透析液との混合により、再度ETは50 pg/mlまで上昇してしまう。50 pgの濃度のETは、

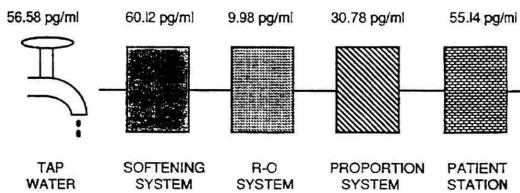


図2 透析液調整段階でのエンドトキシン濃度

(ET測定：トキンカーラー使用)

通常150 lの透析液を1回の治療で使うことからみると、約7.5 μgのETに汚染されていると思われる。こう云ったETによる汚染は、どう云った結果をもたらすかを検討してみた。その第1は、IL-1仮説に代表される長期合併症の発生である。図-3に、その概念を

記載した。長期透析患者の合併症の原因には種々の事柄が関連する。図-3に示したように、透析液に加えられたアセテート、透析膜により活性化される補体、そして、ETがある。それらの因子がマクロファージを活性化し、IL-1産生を促す。周知のようにIL-1は、免疫監視機構の重要な要素であると同時に、強い炎症反応を促す物質であり、強力多彩な生物活性をもっている。現在、長期透析患者で問題となっているdialysis related amyloidosis等も、IL-1産生亢進に関与している可能性もある。

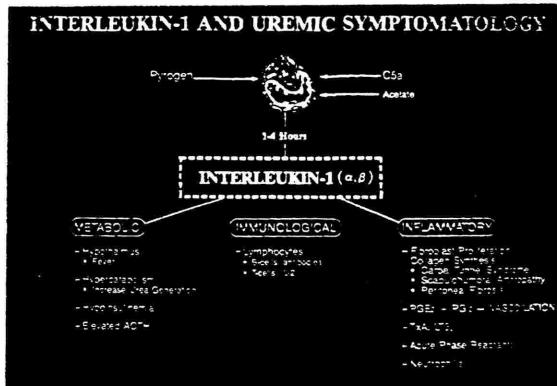


図3 インターロイキン仮説

この意味で筆者らは、透析患者のET抗体を測定した。その結果、図-4に示すように、健常者のET抗体より、有為に透析患者では抗体陽性率が高かった。このことは、やはり7.5 μg以上ものETの暴露の結果ではないかと考える。

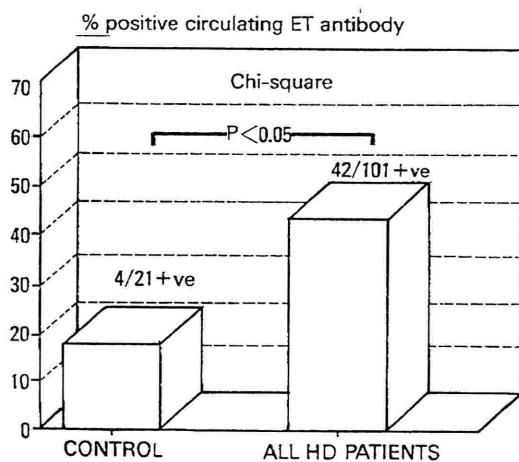


図4 エンドトキシン抗体の比較

通常10<sup>6</sup> deltonにも及ぶETは、透析膜を直過しないと考えられていた。しかし、ETの構造でも述べたよ

うに、会合体がある条件下でサブユニットとなる。この条件の1つにCa、Mg等の2価の金属イオン。そして、界面活性作用のある物質の存在がある。生体内界面活性作用物質の1つに胆汁酸がある。通常、血液内のこの濃度は低いものの、肝障害時等に、その濃度は上昇する。さらに、2価のイオンは透析液にある。こう云った条件下でETは、透析患者血液に入る可能性があるのかも知れない。

## 5. ETの将来

ETに対して最近、それを中和するモノクローナル抗体が開発された。E. coli J-5によって作り出された1gM抗体で、その中和能は、血中ETを充分に中和できるとされている。(7) ETが外毒素と違い、抗血清により中和できない以上、直接Mabを投与することは目的にかなっている。しかし、臨床的に問題となるETは、単にET自体による致死性よりも、種々のmediatorとしての作用も重要である。例えば、cytokineの産生は、生体にとって炎症状態を惹起する。

将来的には、こう云ったETによって誘発された物質を中和、不活性化する方法が確立する可能性があろう。

次に、ETのもつ興味ある点は、種々の抗腫瘍作用等の生体にとって有利となる点である。将来的には、こう云った点も総合的に検討されるようになるであろう。

## 文献

- 1) Bernick, J. J., Friedrich K, Port K, Paveros : InV : vo studies of dialysis-related endotoxemia and bacteeria, Nephron 27 307-312 1981.
- 2) Peavson F, Bohou S, Lee Ni, Brusger G, Sagona M, : Compirison of chemical analyses of Hollow-fiber dialysev exeracts, Artifi, organs 3 291-298, 1984.
- 3) Boulant S. A., Hardy J. O : The effect of spinal and Skin temperatavo on the firing rate and thermosensitivity of preoptic ueuronones J. physiol., 240, 639-660, 1974.
- 4) Suter E : Hyperreactivity to endotoxin in infection, 435-447, Bacterial endotoxin f Rutgers , New Brunswick, N. J. 1964.

- 5) Lonnemann G, : Passage of c. ytokine inducing E, col : Fragments ehvaugh various HD membrane, EDTA abstract 1988.
- 6) Yamagamis, : Detection of endotoxin antibody in long term dialysis patients, Juter, J. ournal, Artif, orgaus, 4, 205-208 1990.
- 7) Yamagami S : Mesurement of endotoxin using Endotoxin Monocloual Autibody in hemodialysis : EDTA abstract, 1990.