

〈原著〉

## 抗生物質誘導性エンドトキシンショックの 病態とその法医学的意義

長井 辰男

### Studies on clinical condition of endotoxin shock induced by antibiotics and its significance of forensic medicine

Tatsuo Nagai

**Summary** To observe generalized Shwartzman reaction is important by the examination of sudden death with bacterial infection.

All the rabbits infected with *E.coli* O-26 and with antibiotics administration of “Cephaloridine” were dead 22-30 hours after the antibiotic injection, while the rabbits infected but without the antibiotics survived over the observation period of 7 days. By the autopsy, haemorrhages were macroscopically observed under the skin, in the intestine and the lung, and severe relaxation in small and large intestine, and cortical necrosis with fibrinoid thrombosis was microscopically observed in the kidney. The concentration of the endotoxin was measured by passive haemoagglutination reaction using by the sheep erythrocytes, coated with anti *E.coli* O-26 and O-86 sera, and only O-26 coated cells were highly reacted.

As a result, I conclude generalized Shwartzman reaction is one of the key by the examination of sudden death with bacterial infection.

**Key words:** endotoxin shock, Shwartzman reaction, antibiotics, forensic medicine

#### I. 諸言

エンドトキシンの測定は、古くはプレゲルを用いたりムルステストが用いられていたが<sup>1)</sup>、血清蛋白、核蛋白、ペプチドグルカンなども反応すること<sup>2)-4)</sup>、また、グラム陰性菌とグラム陽性菌の混合感染あるいは真菌性敗血症などで結果が陽性に出るなど<sup>5),6)</sup>、特異性の点で問題があった。しかし、現在、我が国でエンドト

キシン測定のため用いられている体外診断医薬品は、従来の方法が持つ欠点を利点に変え、エンドトキシンに特異性を示す測定法<sup>7)-9)</sup> およびグルカンに特異性を示す測定法<sup>10)-12)</sup> が確立されている。

一方、欧州連合構成諸国で自然死か、異常死かを識別する実務を行っている機関は、エンドトキシンの検査に特異性が低いリムルステストを使っている。特に解剖室での検査は、解剖医

長井医学研究所  
〒337-0042 埼玉県さいたま市見沼区南中野45-6  
受領日：平成27年11月12日  
受理日：平成28年2月15日

Nagai Medical Science Laboratory  
45-6 Minaminakano, Minuma-ku, Saitama City,  
Saitama Prefecture, 337-0042, Japan

が死体の状況から判断し、必要に応じて解剖補助員が検査し、解剖医がそれを確認しているので、検査方法は簡便で、特異性が高いことが要求される。今回、著者は解剖実務の補助診断のため、どの微生物由来のエンドトキシンであるかを識別する目的で、O抗原に着目し特異性が高い検査法を検討した。

また、エンドトキシンショックの場合には、全身性シュワルツマン反応<sup>13)</sup>が誘発される事が考えられる。もしこのような機構があるとするならば、濃厚なグラム陰性桿菌感染症の場合に、抗生物質を大量投与することによって破壊された菌体由来する菌体内毒素が多量であったため死に至る、抗生物質誘導性エンドトキシンショックおよびそれに由来する全身性シュワルツマン反応を誘発する可能性がある。この仮説を証明するためウサギに*E. coli*を感染させ、抗生物質を投与することによって抗生物質誘導性エンドトキシンショックおよびそれに由来するシュワルツマン反応を誘発することを企図した。

## II. 材料および方法

### 1. 使用菌株

*Escherichia coli* TLM 953 (O-26) およびTLM 954 (O-86) 株を使用した。

### 2. 培地および培養方法

動物の感染には、市販のHIブイオン（栄研化学）に37℃で一夜培養した菌液0.2 mLを、HIブイオン培地200 mLを入れた三角フラスコに接種し、37℃ 8時間振盪培養して得た対数増殖期の菌を使用した。また、血中および臓器内の菌数計算にはHI寒天平板培地を使用した。

### 3. 接種菌液の調整

既述のHIブイオンで培養した菌液の培養濾液を無菌的に遠心除去し、さらにPBSで3回遠心洗浄することによって細菌内毒素を除去した。沈渣の菌体をPBSに浮遊させ、分光光度計で得た数値を検量線と対比し菌数を算定した後、接種菌液を調整した。

### 4. 抗生物質

セファロスポリン系抗生物質であるセファロ

リジン（Keflodin<sup>®</sup>、塩野義製薬）を使用した。

### 5. 菌体内毒素

市販の*E. coli* (O-26) および (O-86) 由来のリポポリサッカライド (Difco) をこの実験の基準にした。

### 6. 血中および臓器内菌数の測定

無菌的に摘出した被験試料にその9倍重量の滅菌したエンドトキシンフリーのPBS (pH 7.4、0.05 mol/L) を加え、ホモゲナイズして10倍階段希釈液を作り、その0.2 mLをHI寒天平板上に接種し、37℃ 24時間培養した。なお、被験動物由来の細菌はO抗原の因子血清 (*E. coli* O-26 およびO-86、北里研究所) との凝集反応により接種した細菌の持つO抗原と同一であることを確認した。

### 7. 最少殺菌濃度の測定

抗生物質の含有量を倍数希釈したHIブイオン培地に、培地および培養方法の項に記載した条件で培養して得た対数増殖期の菌を10<sup>6</sup>個接種し、37℃ 24時間培養後の発育の有無をもって判定した。

### 8. 菌体内毒素の測定

タンニン酸処理ヒツジ赤血球を*E. coli* O-26抗ウサギ血清で感作し、受け身赤血球凝集反応により定量した。感作血球は以下の処置を行って得た。

- 1) ヒツジ赤血球をPBS (pH 7.2、0.15 mol/L) で3回洗浄し (750 g 15分間遠心)、上清を捨てた。この赤血球を10 mLのPBSを入れた2本の遠心管に0.6 mLずつ懸濁した。
- 2) 10 mL タンニン酸溶液 (タンニン酸 5 mg / 50 mL PBS) を各々の遠心管に加えて混合し、37℃の恒温槽で15分間反応させた。
- 3) 反応終了後、各々の遠心管を750 g 5分間遠心し、その上清を捨て、20 mLのPBSを加えて洗浄した。再度各々の遠心管に10 mLのPBSを加え懸濁した。
- 4) 一方の遠心管のタンニン酸処理赤血球に*E. coli* O-26抗ウサギ血清0.6 mLを含んだPBS 10 mLを加えた。他方の遠心管のタンニン酸処理赤血球は、本実験の対照とするため

- 20 mgのBSAを含んだPBS 10 mLを加えた。
- 5) 遠心管の内容を良く混合し、おのおの37°C 30分間恒温槽で反応させた（反応中に数回ゆるやかに良く攪拌した）。
  - 6) 反応終了後、遠心し上清を捨て、各々の遠心管に不活化しヒツジ血球で吸収した正常ウサギ血清を1%の割合に含んだPBS 20 mLを加え3回洗浄した。
  - 7) これを同組成の緩衝液に血球濃度が1%になる様懸濁し用に供した。この感作血球は*E. coli* O-26由来の菌体内毒素のO抗原と特異的に反応し、ヒト、ウサギ、マウスの血清および健康な実験動物の肝、脾、腎で非特異凝集を示さなかった。

菌体内毒素の定量は、10 mg / mLの濃度に溶解した標準菌体内毒素を1000倍希釈して得た菌体内毒素（10 µg / mL）を基準液とし、以下2倍希釈してマイクロタイトレーションを行った。本測定法の感度は5 ng / mLであった。また、*E. coli* O-86由来の菌体内毒素では凝集しなかった。

### 9. 実験動物

ウサギ（日本在来種、雄性、3.5 ~ 4.0 kg）は、北里大学の動物センターの規則に準拠して、至適条件下で飼育し実験に供した。また、ネブプタール麻酔下でサクリファイズした。

## Ⅲ. 結果

### 1. 臓器内菌分布について

1群3羽のウサギをa) ~ f) の6群つくり、それぞれに次の処置をした。a) 生菌接種、b) 加熱死菌接種、c) 生菌と同時に抗生物質接種、d) 抗生物質接種、e) 死菌100 mg由来のcell free extract接種、f) 生菌接種3時間後抗生物質接種。菌数は $2 \times 10^8$ 個、抗生物質は50 mg / kgを用いた。これらは、いずれも静脈内に接種した。

その結果、a) はウサギに菌接種30分~1時間後、一時的に元気がなくなったが20~30分で回復した。b)~e) の実験群は何れも食欲の低下や運動失調などの肉眼的な著変は7日間の観察期間を通じて認められなかった。また、a) ~ e) の生存例では、エンドトキシンが検出限

界以下であった。しかし、f) 群は、ウサギに菌接種20分~1時間後、一時的に元気がなくなったが20~30分で回復した（ここまでは、a群と同様の結果であった）。しかし、先に静脈接種した大腸菌が3時間以内に増殖した結果、c) の同時投与群に比較し抗生物質で破壊され遊離したエンドトキシンが多量であったために、抗生物質接種22~30時間後に全て抗生物質誘導性エンドトキシンショックで死に至った。

そこで、菌投与3時間後の生体内菌分布を調べた結果、わずか3例と例数は少ないが、その傾向は類似しており、図1に示したごとく肺は $3 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ 個/g、肝 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^7$ 個/g、脾は $5 \times 10^6 \sim 3 \times 10^7$ 個/g、腎は $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^4$ 個/g、心血は $1 \times 10^2 \sim 9 \times 10^3$ 個/g、および末梢血は $3 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ 個/gであった。また、筋肉は測定限界以下（50個/g）以下であった。この時期はグラム陰性桿菌が細網内皮系の発達している臓器内に多量に生存しており、抗生物質によって傷害を受け一度に多量の菌体内毒素を放出することが示唆された。

### 2. 臓器内抗生物質濃度および最少殺菌濃度について

抗生物質を50 mg / kgウサギの静脈内に接種

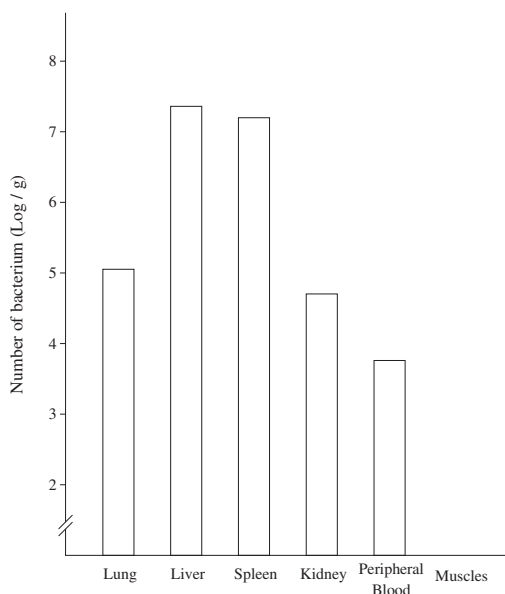


Fig.1 Number of bacteria in the rabbits' organs 3 hours after *E. coli* O-26 infection

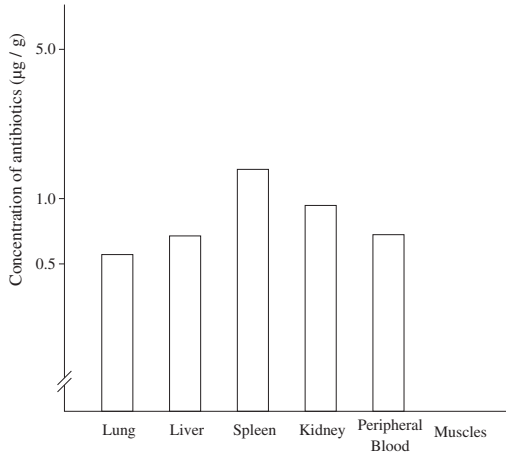


Fig.2 Concentration of the antibiotics in the rabbits' organs 3 hours after the 50 mg/kg of antibiotics injection

し、3時間後の血中および臓器内濃度を定量した結果を図2に示した。いずれも被検菌の抗生物質に対する最少殺菌濃度を上回っていることを確認した。したがって、菌を接種した動物に抗生物質を大量接種した場合、*E. coli*の世代時間と薬剤濃度の関係を考えると、被検菌は3時間以内に死んでいる可能性が高い。

### 3. 抗生物質で誘発したエンドトキシンショック動物について

既述のごとく、ウサギに菌接種30分～1時間後、一時的に元気がなくなったが20～30分後で回復した。生菌接種3時間後に抗生物質を静脈内に接種すると、3時間またはそれ以上の時間経過の後、元気が衰えて食餌をとらなくなり、抗生物質接種後6～8時間で運動失調（起立困難）をきたし、呼吸が浅く促迫し、次いでチェーンストック型の呼吸に変わり、危篤時には全く動かなくなり刺激に反応せず全身の攣性発作を起こし22～30時間後全て死亡した。

剖検では、いずれのウサギも胸腺、肺（図3）、眼瞼、皮下および腸管に点状出血が見られ、腸管は弛緩していた。また、病理組織学的検査の結果、肺胞の拡張、出血が広範に見られ、肝では細胞の壊死、腎ではフィブリン血栓によって典型的な両側の腎皮質の壊死、多数の梗塞、尿管管および糸球体内毛細管の変性、壊死、リンパ球の浸潤（図4）が見られ、諸研究者<sup>13) - 20)</sup>

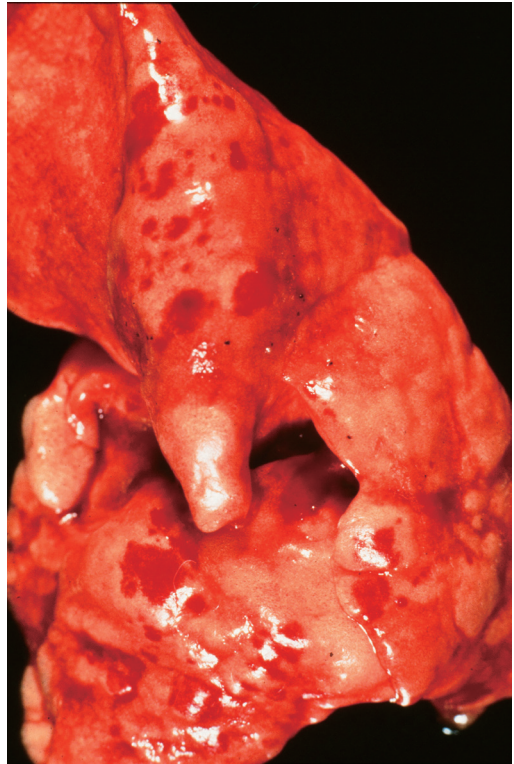


Fig.3 Macroscopical findings of petechiae in the lung

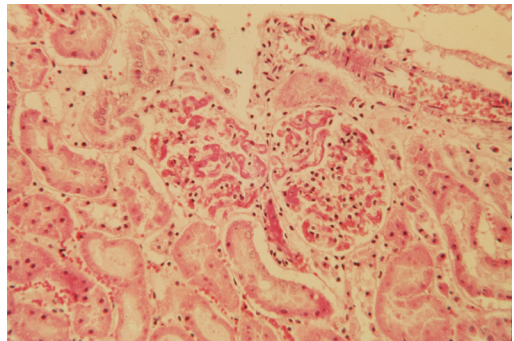


Fig.4 Microscopical findings of lesion in the cortex of kidney

によって報告されている全身性シュワルツマン反応像と同様の所見を呈した。

これらの動物の死亡直後の血液20 mLから、Boivinら<sup>19)</sup>の方法でポイビンタイプの菌体内毒素を抽出し、健康なウサギの耳静脈に投与したところ、24時間以内に死亡した。剖検所見は前者と同様であった。

4. 血中及び臓器内の菌体内毒素の定量について

既述の如く、*E. coli*を接種して一定時間経過後抗生物質を投与した群は、全て同一所見を呈して死亡した。そこで、死亡直後のウサギの一部について血中及び臓器内の菌体内毒素の濃度を測定した。その結果は、図5に示した如く脾は最も多く1.25～5.0 µg/g、肝は1.2～2.5 µg/g、肺、腎および末梢血は0.3～1.2 µg/gであった。しかし、筋肉は検出限界以下であった。

IV. 考察

Arbab-Zadeh<sup>16)</sup> およびCasákóら<sup>17)</sup> は、プロタミン、ヒストンあるいはポリミキシンと*E. coli*由来のポイピンタイプの菌体内毒素を接種することにより菌体内毒素単独投与の場合より症状が顕著にあらわれるという極めて興味深い所見を報告している。この事実は、感染症の際、生体内で菌体内毒素産生の誘導が抗生物質を用いることによって誘発されることを示唆している。

そこで、著者は細菌毒素としては耐熱性で比較的抽出しやすい菌体内毒素を対象として、ウサギを用いてモデル実験的解析を行った。実験の作業仮説は実験動物に弱毒菌を感染させ、感染菌体のみでは死亡しない条件を選び出し、これに対して生体内において殺菌させるような作

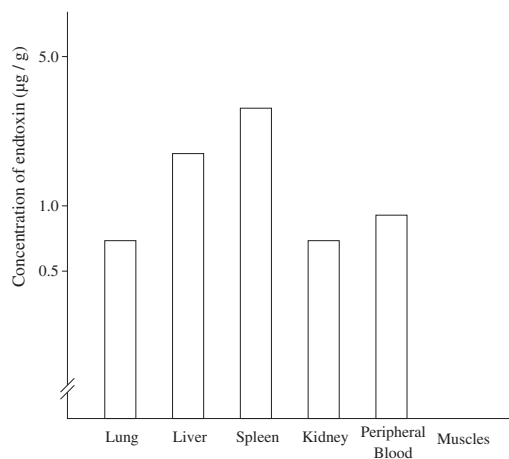


Fig.5 Concentration of the endotoxin in the rabbits' organs after death.

用機序を持つ抗生物質（例えば、比較的安全であるということを用いられている細胞壁合成阻害剤）を投与し、抗生物質誘導性エンドトキシンショックによって死が生ずるか否か、また抗生物質誘導性エンドトキシンショックが生じた場合、血中および諸臓器内の菌体内毒素量の測定および病理組織学的検索を試み、その結果を法医学的領域へ応用することを企図した。

既述の通り、ウサギはin vivo（感染させたのち抗生物質接種）、in vitro（死亡した動物の臓器および血液中の菌体内毒素の測定）更に血液抽出物の受け身投与（死亡した動物の血液から菌体内毒素を抽出し、これを健康な動物に接種しショック死させる）の結果から、抗生物質によって死滅した菌体の崩壊に伴う菌体内毒素（当該の実験条件では、リポポリサッカライドのみが遊離したというよりは、細胞壁や蛋白質などが結合したリポポリサッカライドが主体である）の遊離によってエンドトキシンショックが誘発したことが明らかになった。すなわち、既述の実験結果から統計学的処理をするまでもなく、*E. coli*の感染によって実験動物は死に至ることは無いが、抗生物質投与によってエンドトキシンショックが誘発され死に至ったことが明白である。

Shwartzman<sup>13)</sup> はチフス菌の培養濾液をウサギに少量接種し、24時間後に同じ濾液の一定量を静脈内に接種すると、静脈内投与以前には浮腫ないし充血程度の変化しか見られなかった皮内接種した局所が、静脈内接種後数時間で暗紫色となり、強い出血と壊死が起こることを発見した。この反応は、一般にシュワルツマン型組織反応と呼ばれている。

シュワルツマン型組織反応の機序は、この現象の定義から明らかである。原型のシュワルツマン現象について考えるならば、シュワルツマン濾液の皮内注射によって準備の完成した皮膚局所では、毛細血管壁の性状が変化して出血しやすくなっている。一方、シュワルツマン濾液が静脈内に接種されると、全身の血管壁がおかされて、特に毛細血管では出血に傾きやすく、いわば全身性の出血素因が成り立つ。その出血素因はそれ自身著しいものでなくても濾液の皮内接種によって抵抗性が減少した個所では実際

シュワルツマン現象が成立すると考えられる。

病理組織学的所見は、図3および図4に示したように、血管壁に作用して出血しやすい状態に至らしめるものであり、フィブリン血栓によって生じた典型的な両側の腎皮質の壊死、多数の梗塞、尿細管および糸球体内毛細管の変性、壊死が見られた。既述の組織傷害作用には白血球が極めて重要な役割を果たしていることが考えられる。すなわち、惹起注射後に白血球、リンパ球、血小板などの凝集塊ができ、毛細血管や静脈壁に付着し微小血栓症を起す<sup>15)</sup>。また、シュワルツマン反応には菌体内毒素により白血球のライゾゾームから酵素が遊離し、活性化されることが重要である<sup>21), 22)</sup>。

緒方<sup>20)</sup>は、シュワルツマン反応は準備注射と惹起注射が抗原として異質の物であっても良く、広く解釈して何等か変化している組織にある因子が作用して出血ないし壊死に至る変化を起こすことをシュワルツマン型組織反応と呼ぶこともあると広義に解釈している。また、アレルギーもその一部の因子になりえるという文献もある<sup>6), 16), 18)</sup>。細菌でも著者が用いた*E. coli*のようにシュワルツマン物質を作りやすい菌もある。一方、白血球をX線照射、ベンゼン、マスタード窒素などで処理することによりシュワルツマン反応の惹起が抑制される<sup>15), 21)</sup>ことも知られている。

著者は、この実験を通して抗生物質で誘発された菌体内毒素によるショック死の興味ある剖検所見を得た。すなわち、エンドトキシンショックの病理所見は、動物実験で示した如く、シュワルツマン型組織反応と全く同様の所見であった。法医学領域においてはこのように細菌感染を伴ったショック死の場合、例えばシュワルツマン型組織反応のような病理組織学的所見を把握することがその鑑定においては不可欠である。しかし、このような所見は急死の場合などによく見かける所見である。したがって、これをもってシュワルツマン反応陽性と決断するのはかなり問題がある。

一方、シュワルツマン反応の機序は血清学的反応の一種によって生ずるといわれている<sup>23)</sup>が、純粋な抗原抗体反応ではなく感染した菌と異なった菌を作用させても誘発されるという特徴を持っている。したがって、このようなシュ

ワルツマン反応が著者の実験において存在するならば、今まで諸研究者によって記載された菌体内毒素による中毒作用が果たして毒素の持つ真の作用によるものか、または既述のごとき血清学的反応機序が介在していたか否か問題になるであろう。後者の立場に立てば、既に腸内細菌によって感作された動物へ局所に*E. coli*の菌体内毒素が作用したために著者の見出したごとき所見が得られたのかもしれない。人間を含む動物は、今までにかなり多数の細菌毒素によって感作されているとみなすべきであり、無菌動物のように微生物学的なコントロールを受けていない普通の動物を用いたのでは、いずれもシュワルツマン感作動物を用いて実験していたことになる。仮に、過酢酸噴霧し滅菌したチャンパー内で帝王切開し、仔獣を子宮から取り出して飼育するという手順で得た無菌動物を用いて同一実験を行っても、過酢酸噴霧し滅菌した無菌飼育装置（動物飼育用ケージなど）および高圧蒸気滅菌した飲料水の容器に付着していた死滅したグラム陰性桿菌や飼料中に含まれている死滅したグラム陰性桿菌などの混在を完全に否定する事は現在の段階では不可能である。このため通常の動物では多かれ少なかれ著者らが問題にしているグラム陰性桿菌の菌体内毒素への感受機構が無菌動物の場合でも否定されない。このような点を含め菌体内毒素の作用機序については十分慎重な分析がなされなければならない。

急死事例では肉眼的及び顕微鏡的所見が明瞭でないことが多い。それゆえ急死の原因を把握することが難しく、現在の法医学領域の課題の一つになっている<sup>24)</sup>。特に乳幼児（生後3～6か月）では母親から受け入れた抗体の力価が低下し、自己の抗体産生能が未熟な状態にあるので感染に対する防御反応はかなり貧弱であるから、この状態で感染症が起れば形態学的に明瞭な炎症像が無い場合もあるので、病理学的検査法にも限界があることに注意しておく必要がある<sup>24)</sup>。このような場合、剖検時に摘出した臓器から毒素を直接抽出し同定することは極めて重要である。しかも、さらにどの細菌の菌体内毒素によって生じたかも明らかにしなければならぬはずである。したがって、この面から菌体内毒素の分子的特徴について調べておく必要が

ある。

耐熱性のリポポリサッカライドは、グラム陰性桿菌の膜に特異的に見られる糖を主体とした多数の脂肪酸を含む両極性の分子である。この分子は、グラム陰性桿菌が動物に感染した場合、宿主動物が示す種々の生理、病理作用の主要原因物質、すなわち、菌体内毒素と呼ばれている物質の主成分である。腸内細菌の分類に広く用いられてきた抗原性（O抗原）は、リポポリサッカライドの糖の構造に由来する。Lipid A-R core部位とO抗原多糖は全く異なった経路、機構によって独立に合成され、後に結合し、遺伝的にも別の制御を受けている<sup>25)</sup>。これからわかるように、菌体内毒素自身が感染細菌の特異性をそのまま示している。

また、細菌集落がスムーズ型からラフ型に変異した場合、その菌は通常O特異性を失い、同時に宿主に対して特定の菌種の感染性、侵襲性が低下する。

Nelsonら<sup>26)</sup>は、セファロスポリンとペニシリンを用いて、*Salmonella typhimurium*と*Salmonella enteritidis*から人血清に感受性の変異株を分離し、それらの菌株のマウスに対する毒力（この場合の毒力とは使用菌株の宿主への感受性、侵襲性を意味する）とリポポリサッカライドの相互作用を調べた結果、O-多糖の一部あるいは全部を失った株は何れも毒力が弱まり、ヒトの血清中で容易に殺菌されることを見出した。中野ら<sup>27)</sup>は、宿主の感染防禦機構に対するリポポリサッカライドの役割を知る一手段として、実験動物に変異株を静脈内感染させ、以後時間を追って血中から菌のクリアランス（網内系食細胞による菌の補足）を調べた結果、スムーズ型野生株に比べラフ型は全て急速に血中からクリアされるが、SR変異株は両者の中間であると報告している。

これらのデータは著者が本実験に使用した*E. coli* TLM 953株のスムーズ型菌を接種したにもかかわらず抗生物質の接種時に血中および諸臓器中に多数生存していた事実を支持するものである。また、生体のRESの2/3を占めると言われている肝と脾は<sup>28)</sup>、腸管壁を通過して血流内に取り込まれる*E. coli*を主とした腸内細菌のエンドトキシンを解毒するので、血中の菌体内毒素は正常では増加しない。ところが、シヨツ

ク時には肝や脾の血流低下に伴い菌体内毒素の解毒されない部分が次第に蓄積する。これらの所見も著者の示した菌体内毒素の定量結果と一致した。

著者はO抗原に着目し、これを受身赤血球凝反応に応用した。その感度は既知量のリポポリサッカライドを用いて測定した結果5 ng/mLであった。この感度は法医解剖（司法解剖および行政解剖を含む）による診断に用いることが可能である。著者の方法はO抗原を主体に定量することから、例えば、菌体内毒素の由来が*E. coli* O-86抗原を持つ菌株か、O-26抗原を持つ菌株かの区別が可能であった。したがって、特異性が高い検査法であることは明らかである。すなわち、どのO抗原を持つ細菌由来の菌体内毒素によるシュワルツマン反応を伴い死亡したかの区別が可能である。このようにして、菌体内毒素の同定と定量を解剖実務の補助診断に役立てることによって、今までとかくクリアカットな結果の得にくい乳幼児の突然死などの死因解析に役立てることが可能である。

#### 参考文献

- 1) 真嶋 光, 鈴木康義, 折笠精一: 細菌産生物のラット膀胱上皮に及ぼす影響 走査電顕による観察. 日泌尿会誌, 77: 114-124, 1986.
- 2) Wildfeuer A, Heymer B, Schleifer KH, Haferkamp O: Investigations on the specificity of the Limulus test for the detection of endotoxin. Appl Microbiol, 28: 867-871, 1974.
- 3) Platica M, Hollander VP: Role of lipopolysaccharide in the production of plasma cell tumors in mice given mineral oil injections. Cancer Res, 38: 703-705, 1978.
- 4) Elin RJ, Robinson RA, Levine AS, Wolff SM: Lack of clinical usefulness of the Limulus test in the diagnosis of endotoxemia. N Engl J Med, 293: 521-524, 1975.
- 5) Leibowitz AL, Vladutiu AO, Nolan JP: Immunoradiometric assay of endotoxin in serum. Clin Chem, 25: 68-70, 1979.
- 6) Stumacher RJ, Kornat MJ, McCabe WR: Limitations of the usefulness of the Limulus assay for endotoxin. N Engl J Med, 228: 1261-1264, 1973.
- 7) Kan S, Takahashi G, Onodera C, Shouzushima T, Matsumoto N, Inada K, Endo S: Evaluation of an endotoxin specific limulus amoebocyte lysate assay using leukocyte-rich plasma for the diagnosis of

- gram-negative bacterial infection. *J Infect Chemother*, 19: 299-304, 2013.
- 8) Onodera C, Takahashi G, Kan S, Shozushima T, Matsumoto N, Inada K, Endo S: Experimental application of a synthetic luminescent substrate assay using endotoxin-specific limulus amoebocyte lysate to human blood. *J Infect Chemother*, 18: 370-377, 2012.
- 9) 管 重典, 高橋 学, 小野寺ちあき, 増田卓之, 松本尚也, 稲田捷也, 遠藤重厚: 多白血球血漿を用いたエンドトキシン測定法の基礎的研究. *臨床病理*, 60: 1045-1052, 2012.
- 10) Mori T, Ikemoto H: Clinical evaluation of plasma (1,3)- $\beta$ -D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric limulus test for the clinical diagnosis of mycotic infections. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 35: 553-560, 1997.
- 11) Inada K, Takahashi K, Ichinohe S, Suda H, Tsuchiya M, Takahashi J, Matsuura S, Kasai T, Yoshida M, Endo S, Sato S: A silkworm larvae plasma test for detecting peptidoglycan in cerebrospinal fluid is useful for the diagnosis of bacterial meningitis. *Microbiol Immunol*, 47: 701-707, 2003.
- 12) 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 $\beta$ -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.
- 13) Shwartzman G: Phenomenon of local tissue reactivity. Paul B Hoeber Inc, New York, 1937.
- 14) Bohle A Krecke HJ: Über das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (Sog. Generalisierte Shwartzman-Phänomen) das Menschen (Ger). *Klin. Wschr*, 37: 803-814, 1959.
- 15) Krecke HJ: Das tierexperimentelle Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (Ger). *Deutsches Med J*, 18: 355-359, 1967.
- 16) Arbab-Zadeh A, Prokop O, Reimann W: Rechtsmedizin (Ger). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1977.
- 17) Csákó G, Csernyánszky H, Glant T: The role of basic substances of high molecular weight in the generalized shwartzman reaction: *Arzneim- Forsch (Drug Res.)*, 24: 1585-1588, 1974.
- 18) Stetson CA Jr.: Studies on the mechanism of the shwartzman phenomenon: Similarities between reactions to endotoxins and certain reactions of bacterial Allergy. *J. Exp. Med.*, 101: 421-436, 1955.
- 19) Boivin A, Mesrobeanu I, Mesrobeanu L: Technique pour la preparation des polysaccharides microbiens spécifiques. *Compt Rend Soc Biol*, 113: 490-498, 1933.
- 20) 緒方富雄: シュワルツマン現象血清一学の領域から. 2版, 河出書房, 東京, 1945.
- 21) Chedid L, Parant M: Role of hypersensitivity and tolerance in reactions to endotoxins. *Microbial toxins V (Kadis S, Weinbaum G and Ajl SJ, Eds)*, 415-459, Academic Press, New York and London, 1971.
- 22) Thomas L: Possible role of leucocyte granules in the Shwartzman and arthus reaction. *Pros Soc Exptl Biol Med*, 115: 235 -240, 1964.
- 23) Stetson CA Jr: Symposium on bacterial endotoxins. IV. Immunological aspects of the host reaction to endotoxins. *Bact Rev*, 25: 457- 458, 1961.
- 24) Prokop O, Göhler W: *Forensische Medizin*, 3 Auflage (Ger), Veb Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1975.
- 25) 金ヶ崎士朗: lipopolysaccharideの生合成と膜. *生化学*, 46: 297-324, 1974.
- 26) Nelson BW, Roantree RJ: Analysis of lipopolysaccharide extracted from penicillin - resistant, serumsensitive Salmonella mutants. *J Gen Microbiol*, 48: 179 -188, 1967.
- 27) Nakano M and Saito K: The chemical compositions in the cell wall of Salmonella typhimurium affecting the clearance rate in mouse, *Japan J Microbiol*, 12: 471- 478, 1968.
- 28) 隅田幸雄: Endotoxin shockについて. *感染症*, 2: 64-68, 1974.