実験的膀胱炎の感染発症機序に関する研究

第1報 細菌侵入経過の分析

岡 山 悟
札幌医科大学泌尿器科学教室
(主任: 熊本悦明教授) 熊 本 悦 明
西 尾 彰

INFECTIOUS MECHANISM IN EXPERIMENTAL CYSTITIS OF MICE

I: Analysis of Process of Bacterial Invasion

Satoru Okayama, Yoshiaki Kumamoto and Akira Nishio

Department of Urology, Sapporo Medical College

(Director: Prof. Yoshiaki Kumamoto)

E. coli (06) 2×10^7 cells/ml was inoculated into mouse bladder by transurethral technique.

Immunohistochemical studies were performed on the infectious mechanism in experimental cystitis of mice.

The results obtained were as follows:

1) Development of infection and bacterial counts in urine: More than 10^6 cells/ml of urinary bacteria on an average were detected until 7 days after the inoculation of *E. coli* (06) but the number decreased below the detectable level after 14 days indicating the state of spontaneous healing.

2) Mucin layer in the mucosal epithelium of urinary bladder: In the normal bladder of control animals, disappearance of mucin layer was not observed, while in the bladder which had received bacterial inoculation, its partial disruption was observed 2 hours after inoculation, and after 6 hours the mucin layer disrupted from almost the whole area of the inner-coat of the bladder. Its disruption became even more marked after 3 and 7 days. There was no recover of mucin layer, and the attachment and growth of bacteria on the mucosal epithelium were more marked and vigorous. A recover of mucin layer was observed 14 days after the inoculation.

3) Invasion of bacteria into urinary bladder: Invasion of bacteria into mucosal proper layer was already evident 2 hours after bacterial inoculation. After 6 hours, invasion of "free" bacteria which were not attacked by leucocytes could be found in the submucosal layer. After 12 and 24 hours, bacteria which had been attacked by phagocytic action of leucocytes were remarkable. After 3 and 7 days, there were practically no "free" bacteria but the attachment and growth of bacteria on mucosal epithelium were more marked.

4) Kinetics of the infiltrating cells in the urinary bladder: Submucosal edema of urinary bladder was manifest 2 hours after bacterial inoculation and became more marked after 6 hours. It regressed 12 and 24 hours after inoculation but became larger again after 3 and 7 days. Leucocytes were detected in the submucosal layer 2 and 6 hours after bacterial inoculation. After 12 and 24 hours, they increased in number and were detected also in the vesical cavity. The number of the leucocytes showed a marked increase 3 and 7 days after infusion, and infiltration of lymphocytes and plasma cells increased simultaneously.

5) Immunocompetent cells: The amount of the T-lymphocytes in the urinary bladder 3 and 7 days after inoculation was 5 to 10% of the total infiltrating cells as determined by immunoenzyme antibody with Thy-1 antigen.

要旨: マウス膀胱内に *E. coli* (06) 2×10^7 cells/ml を 0.05ml (PBS) ずつ経尿道的に注入し, 実験的膀胱炎を作成し, 感染発症の過程を免疫組織化学的に検討を加えた。

1) 感染の進展と尿中細菌数：E. coli (06) 注入 7 日後まで平均 10^6 cells/ml 以上の尿中細菌数が認められたが、注入 14 日後には尿中細菌数は認められず、自然治癒の状態となった。

2) 膀胱粘膜上皮の mucin 層：PBS 液 0.05ml 膀胱内注入した control 膀胱組織においては、粘膜上皮の mucin 層の消退は認められず、E. coli (06) 膀胱内注入 2 時間後で mucin 層は部分的に消退した。注入 6 時間後で膀胱粘膜上皮全体に mucin 層の消退が認められた。注入 3, 7 日後の膀胱粘膜上皮では mucin 層の消退はさらに強く、又 mucin 層の再生はなく、細菌の粘膜上皮への附着、増殖は一段と強く認められた。又注入 14 日後には、mucin 層の再生が確認された。

3) 細菌の膀胱組織内侵入：E. coli (06) 注入 2 時間後、すでに粘膜固有層に細菌の侵入を認めた。注入 6 時間後には粘膜下層に多数の白血球に食食されない“free”の細菌の侵入を認めた。注入 12, 24 時間後では白血球に食食されているものが目立つようになる。注入 3, 7 日後には粘膜上皮に多数の細菌の附着、増殖を認めるが、粘膜下には“free”の細菌はほとんど認めない。

4) 膀胱組織および浸潤細胞の動態：膀胱粘膜下の水腫は、E. coli (06) 注入 2 時間後より出現し、注入 6 時間後に強くなる。注入 12, 24 時間後にむしろ軽減するが、注入 3, 7 日後に再び強く認められる。E. coli (06) 注入 2, 6 時間後に粘膜下に白血球が出現してくる。注入 12, 24 時間後に粘膜下の白血球は増加し、膀胱腔内にも白血球が認められるようになる。注入 3, 7 日後には粘膜下の白血球は著しく増加し、リンパ球、プラズマ細胞の浸潤も増加する。

5) 免疫担当細胞：膀胱組織内のリンパ球について注入 3, 7 日後の膀胱組織を抗 Thy-1 血清を用いて酵素抗体法にて検索すると T-リンパ球が 5～10% であった。

結 言

膀胱炎の発症は、細菌が宿主側の感染防御機構を突破し、粘膜面に附着後膀胱組織内に侵入し、炎症を惹起することによって成立すると考えられる。近年、実験的膀胱炎の研究が盛んになり、細菌側の病原因子及び宿主側の感染防御因子の面から多くの報告がみられる。細菌の病原因子としては、O 抗原及び K 抗原による差異^{1)~3)}、細菌の pili の有無⁴⁾⁵⁾、又細菌の出す酵素、toxic substance による病原性などが問題とされている。宿主側の感染防御因子の面からは、排尿による washout mechanism が重要視されている。しかしこれのみでは排菌は完全ではなく、他に膀胱粘膜面での防御因子の重要性が示唆されている⁶⁾⁷⁾。この粘膜面での防御因子としては、sIgA^{8)~10)}、mucopolysaccharide¹¹⁾、多核球¹²⁾¹³⁾など膀胱粘膜面への細菌の附着を阻止すると考えられている物質の存在がある¹⁴⁾。又粘膜上皮そのものによる細菌の食食あるいは除菌作用の存在が考えられている。以上の他、感染防御因子として尿そのものがもつ pH¹⁵⁾、Urea¹⁶⁾、Ammonia¹⁷⁾の存在が考えられている。

その様な細菌の病原性と宿主側の防御能との相対的な力関係の結果として膀胱炎がおこりうる訳であるが、著者らは実験的に膀胱炎を発症させ、その過程において膀胱粘膜面での感染成立までの細菌の動態と膀胱粘膜組織の変化を経時的に検討し、感染発症機序の

分析を試みた。

大腸菌をマウス膀胱内に経尿道的に注入し、実験的膀胱炎を作製した。細菌の膀胱組織内侵入を蛍光抗体法を用いて検討すると同時に膀胱組織内変化を光顕的に観察した。さらにコロイド鉄染色法¹⁸⁾にて膀胱粘膜上皮の mucin 層について検討した。又免疫組織学的にも検討を行った。

実験材料および実験方法

1. 使用菌株および使用菌液の調製

尿路感染症患者より分離された E. coli (06) を trypticase soy broth に接種 37°C, 18 時間静置培養した後 PBS にて 2×10^7 cells/ml に調製した。

2. 実験動物

6 週齢の ddY 系雌マウス (体重 17～26g) を使用し、実験の 24 時間前より絶水とし、実験後も 24 時間絶水とした。

3. 細菌の膀胱内注入方法

経尿道的に 0.05ml ずつポリエチレンチューブを使用し、ネブタール麻酔下でマウスの外尿道口をアルコール綿で軽く清拭した後に膀胱内に注入した。注入後、膀胱刺激などに反応してすぐ排尿してしまうことを防ぐためクレンメにて外尿道口を 2 時間クランプし、注入後の排尿による排菌を予防した。

4. 尿中細菌数の定量

菌液注入後の尿中細菌数の推移を検討するため定時

的にマウスをエーテル麻酔下、ポリエチレンチューブで経尿道的に尿を採取し、それを寒天平板培地を用いて生菌数定量を行った。生菌数定量後直ちに膀胱を摘出、固定を行った。

5. 組織学的検討

a) ヘマトキシリン・エオジン (以下 H-E と略す) 染色

エーテル麻酔下でマウスを屠殺し膀胱を摘出した後、直ちに periodate-paraformaldehyde (PLP) にて 12 時間 4℃ 下で固定し、その後パラフィン包埋し切片を作製した¹⁹⁾。

b) 蛍光抗体法による検討

上記同一切片について蛍光抗体法を行った。抗 O 抗原血清は Edwad and Ewing の方法²⁰⁾にて本実験に使用した *E. coli* を用いて作製した。二次血清は、Bact-FA-Rabbit Globulin Antiglobulin Goat (Difco) を使用した。蛍光顕微鏡はニコン SL を使用した。

c) コロイド鉄染色法

上記同一切片についてコロイド鉄染色および H-E 染色にて二重染色を行った。

d) 酵素抗体法

抗 Thy-1 血清を使用し T-リンパ球の染色を行った²¹⁾。

実験結果

I. 尿中細菌数の経時的推移 (Fig. 1)

マウス膀胱内へ *E. coli* (06) 2×10^7 cells/ml を 0.05 ml (PBS) 注入した後の尿中細菌数の推移を経時的に検討した。

注入 2 時間後の尿中細菌数は、 $1 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ cells/ml、注入 6 時間後、 $3 \times 10^5 \sim 4 \times 10^7$ cells/ml、12 時間後、

$1 \times 10^4 \sim 6 \times 10^6$ cells/ml、24 時間後、 $8 \times 10^4 \sim 6 \times 10^6$ cells/ml、3 日後、 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$ cells/ml、7 日後、 $2 \times 10^5 \sim 6 \times 10^8$ cells/ml と多少の一時的な菌数変動はあったが、殆んど 10^5 cells/ml 以上の菌数が保たれていた。しかし、14 日後には尿中より全例細菌の分離が認められなくなった。

II. *E. coli* (06) 単独注入後の膀胱組織所見の推移

A. コロイド鉄染色法による mucin 層の変化の検討

1. 正常の膀胱粘膜上皮の mucin 層

PBS 注入後 2 時間外尿道口をクランプして作製した膀胱組織では粘膜上皮に青く染まった mucin 層が認められる (Fig. 2)。

2. 注入 2, 6 時間後ではほぼ全体に mucin 層の消退が認められた。注入 6 時間後の膀胱組織では mucin 層の消退した粘膜上皮面に附着する細菌が認められた。又膀胱腔内に mucin に“取り込まれた”とみられる細菌も散見された (Fig. 3, 4)。

3. 注入 3, 7 日後の膀胱粘膜上皮には、mucin 層の再生はなく、上皮への細菌の附着が著しい (Fig. 5, 6)。

B. H-E 染色による組織学的所見の変化の検討

1. 注入 2 時間後の膀胱組織

Fig. 7 に示すごとく、部分的に粘膜下の水腫が出現してくる。又粘膜下に軽度の白血球浸潤が認められる。粘膜上皮の脱落はほとんど認められない。

2. 注入 6 時間後の膀胱組織

Fig. 8 に示す如く、膀胱組織全体に粘膜下の水腫が高度に認められ、粘膜下にさらに強い白血球浸潤が認

Fig. 1 Number of bacteria recovered from the urinary bladders of mice 2, 6, 12, 24 hours and 3, 7, 14 days after inoculation of 2×10^7 cells/ml *E. coli* (06) each point represents one animal

Fig. 2 The normal bladder of control animal of 2 hours after the inoculation of PBS (Stained with both colloidal iron and hematoxylin and eosin; $\times 128$)

Fig. 3 The urinary bladder of 2 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Stained with both colloidal iron and hematoxylin and eosin : $\times 80$)

Fig. 4 The urinary bladder of 6 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Stained with both colloidal iron and hematoxylin and eosin : $\times 128$)

Fig. 5 The urinary bladder of 3 days after the inoculation of *E. coli* (06)

B: Bacteria attached to the mucosal epithelium of the bladder (Stained with both colloidal iron and hematoxylin and eosin : $\times 128$)

Fig. 6 The urinary bladder of 7 days after the inoculation of *E. coli* (06) (Stained with both colloidal iron and hematoxylin and eosin : $\times 80$)

Fig. 7 The urinary bladder of 2 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin : $\times 22$)

Fig. 8 The urinary bladder of 6 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

Fig. 9 The urinary bladder of 12 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

Fig. 10 The urinary bladder of 24 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

Fig. 11 The urinary bladder of 3 days after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

Fig. 12 The urinary bladder of 7 days after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

められる。

3. 注入12, 24時間後の膀胱組織

Fig. 9, 10に示す如く、粘膜下の水腫はむしろ軽減するが、膀胱腔内への白血球も認められるようになり、粘膜下への白血球浸潤も高度に認められる。

4. 注入3, 7日後の膀胱組織

Fig. 11, 12に示す如く、粘膜下の水腫は全体に高度に認められる。白血球浸潤もひじょうに強く、リンパ球、プラズマ細胞の浸潤もめだってくる (Fig. 13)。

5. 注入14日後の膀胱組織

粘膜下の炎症反応はおさまり、結合組織の増生が認められる (Fig. 14)。

6. 膀胱組織内リンパ球、マクロファージ、プラズマ細胞の変動 (Fig. 15)

リンパ球、マクロファージ、プラズマ細胞の粘膜下

Fig. 13 The urinary bladder of 7 days after the inoculation of *E. coli* (06)

Ly: lymphocyte P: Plasma cell (Hematoxylin and eosin: $\times 400$)

Fig. 14 The urinary bladder of 14 days after the inoculation of *E. coli* (06) (Hematoxylin and eosin: $\times 22$)

Fig. 15 Comparison of lymphocyte and plasma cell concentrations in the bladder of infected mice

Fig. 16 The urinary bladder 2 hours after the inoculation of *E. coli* (06)

B: Bacterial invasion into mucosal proper layer was evident (Stained with fluorescent antibody: $\times 400$)

組織内分布の経時推移をみると Fig. 15に示す如くである。膀胱組織切片中炎症反応の一番強い部分を光顕的に観察し、白血球100個を数えた時に確認されるリンパ球、マクロファージ、プラズマ細胞の実数値を示した。リンパ球、マクロファージは注入6時間後に一時増加するが、その後一時減少し、注入3、7日後に再び増加が認められた。プラズマ細胞は3、7日後に増加を示した。

C. 蛍光抗体法による *E. coli* の膀胱組織内侵入動態の検討

1. 注入2時間後は、粘膜固有層までに細菌の侵入が認められた (Fig. 16)。

2. 注入6時間後には粘膜下へ全体に細菌の侵入が認められる。しかも白血球にまだ貪食されていない

“free”の細菌が著明に認められる (Fig. 17, 18)。

3. 注入12、24時間後には粘膜下の細菌は白血球に貪食されているものが目立つようになる (Fig. 19, 20)。

4. 注入3、7日後には粘膜上皮に多数の蛍光を発する細菌が認められるが粘膜下には“free”の細菌はほとんど認められなくなる。粘膜下に侵入した細菌は、粘膜下に浸潤した白血球により直ちに貪食、処理されるものと考えられた (Fig. 21, 22)。

以上の結果を Table 1にまとめた。

尿中細菌数は、細菌注入7日後まで平均 10^6 cells/ml以上認められたが、注入14日後では全例認めなかった。膀胱組織への細菌の侵入は、注入2時間後すでに粘膜固有層に認められ、注入6時間後には粘膜下層にも多

Fig. 17 The urinary bladder of 6 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Stained with fluorescent antibody: $\times 100$)

Fig. 18 The invasion of "free" bacteria which were not attacked by leucocytes could be found in the sub-mucosal layer (Stained with fluorescent antibody: $\times 700$)

Fig. 19 The urinary bladder of 12 hours after the inoculation of *E. coli* (06) (Stained with fluorescent antibody: $\times 100$)

Fig. 20 The urinary bladder of 24 hours after the inoculation of *E. coli* (06)

B: Bacteria attacked by phagocytic action of leucocytes (Stained with fluorescent antibody: $\times 100$)

くの"free"な細菌を認めた。

粘膜上皮の mucin 層は、注入 2 時間後に部分的に消退を認め、注入 3、7 日後には明らかに mucin 層が消退した上皮面に細菌の附着、増殖を一段と強く認めた。注入 14 日後の粘膜上皮には部分的に mucin 層の再成

を認めた。

膀胱粘膜下の水腫は、注入 2 時間後に出現し、注入 6 時間後にさらに粘膜下全体におよび注入 12、24 時間後にやや軽減するが、注入 3、7 日後に再び強く出現し

Fig. 21 The urinary bladder of 3 days after the inoculation of *E. coli* (06)

B: Bacteria attacked by phagocytic action of leucocytes (Stained with fluorescent antibody: $\times 700$)

Fig. 22 The urinary bladder of 7 days after the inoculation of *E. coli* (06)

B: Bacteria attached to the mucosal epithelium of the bladder (Stained with fluorescent antibody: $\times 700$)

た。膀胱粘膜下の白血球は注入2時間後より出現し、その後注入7日後まで増加した。リンパ球、マクロファージは注入6時間後に一時増加し、その後注入3、7日後に多少増加した。プラズマ細胞は注入6時間後より出現し、注入3、7日後に多少増加した (Table 1)。

考 案

膀胱炎発症機序の解析のため、これまで多くの動物実験が行われてきた。ただ単に細菌を無処置の膀胱に注入するのみでは極めて発症は困難とされて来た。Cox ら⁶⁾は volunteer の膀胱内に *E. coli* を注入したところ、72時間後尿中に *E. coli* を証明することが出来なかったという実験報告を行っている。しかし、彼らは同時に、これは膀胱粘膜に何らかの防御機構が働いていることが除菌をさらにすみやかにしているとし、washout mechanism と同時に膀胱粘膜固有の防御機能を認めている。

膀胱粘膜固有の感染防御能の本態については今だ不明の点が多く、これまで考えられてきたのは、白血球の貪食による殺菌効果である。Nordin ら⁷⁾は、粘膜より何らかの殺菌効果のある物質が出されていることを示唆するも、その本態については不明である。

そこで、我々は実験的に膀胱炎を作製し、膀胱粘膜への細菌の侵入と、それに伴う生体側の反応を経時的に検討することにより、膀胱炎発症機序を明らかにし、又感染防御能の本態について明らかにしようと考えた。

折笠ら¹⁴⁾も、膀胱粘膜上皮細胞が細菌の侵入を受けると逐次脱落することが細菌の侵入を防御する機序に関与していると報告している。しかし膀胱粘膜上皮細胞が貪食、殺菌作用を有する、あるいは細菌が粘膜上

Table 1 Pathological findings in urinary bladder wall after *E. coli* inoculation (2×10^7 cells/ml) in mouse

findings	time after inoculation				3 days	7 days	14 days
	2 hr.	6 hr.	12 hr.	24 hr.			
Bacteria in Urine	10^7	10^7	10^6	10^6	10^7	10^6	—
Bacteria in Epith. Layer	+	+	+	+	++	++	—
Bacteria in Submu.Layer	+	++	+	+	+	+	—
Mucin Disruption	+	++	++	++	+++	+++	+
Submucosal Edema	++~	+++	++	++~	+++	+++	—
P.M.N.	+	++	++~	++~	+++	+++	—
Lymphocyte & Macrophage	+	++	+	+	++	++	—
Plasma Cell	—	+	+	+	++	++	—

皮内へ侵入した結果粘膜上皮細胞が逐次脱落し細菌の除菌作用に働いているとしても細菌は粘膜上皮への附着、増殖、侵入という段階を経て感染を引き起こす。故に、その感染成立の第一段階としての細菌の粘膜上皮への附着が膀胱炎発症にとって重要であることは明らかである。これまでに附着に関する実験は主に exfoliated uroepithelial cell を用いて行われており、この結果が in vivo でもすぐに成り立つかは不明である⁴⁾⁵⁾。

Parson ら¹¹⁾は、ラビットを使った in vivo の実験膀胱炎で膀胱粘膜上皮の mucin 層が細菌の粘膜上皮への附着を阻止しているという実験結果を報告している。まず我々は、マウスを使用した実験膀胱炎で感染に伴った細菌の動態と膀胱組織の経時的変化と同時に膀胱粘膜上皮の mucin 層の消退について検討した。

正常のマウスの膀胱組織では、粘膜上皮に明らかに mucin 層を認めたが、細菌注入2時間後では部分的に消退し、注入6時間後では、ほとんど粘膜上皮全体にわたって mucin 層は消退した。さらに注入3, 7日後の膀胱粘膜上皮の mucin 層は再生がなく、細菌の粘膜上皮への附着、増殖は著明に増加した。

Parson ら¹¹⁾は、粘膜上皮の mucin 層が細菌の粘膜上皮への附着を阻止していると報告し、mucin 層は希酸にて除去した場合、24時間から48時間後に再生されたとしている。しかし、細菌注入にて mucin 層の消退が認められるかどうかに関しては述べていない。

Davis ら²²⁾は、細菌は粘膜上皮面を変質させる可能性があると報告している。

さらに、Marion ら²³⁾の報告によると膀胱粘膜上皮の mucin 層は、E. coli をラット膀胱内に注入2時間後に消退を認め、注入4時間後にほぼ全体にわたり消退し、粘膜上皮細胞には浮腫を認め上皮細胞への細菌の附着が著しく増加したとしている。又消退した mucin 層は、24時間から48時間後に再生されるとし、この時点では、粘膜上皮の細菌の附着は認めないと報告している。彼らは、mucin 層の消退の原因について細菌より何らかの酵素が放出し、mucin を溶解するのか、あるいは、細菌のもつ endotoxin が粘膜上皮の mucin 産生能を妨害している可能性があるとして述べている。我々は、その一つの物質について、Rodney ら²⁴⁾の方法により、大腸菌の mucinase について検出を試みたが、検出は出来なかった。又大腸菌のもつ endotoxin についても、mucin 層を消退させる可能性があると考え、マウス膀胱内に注入して検討したが E. coli (06) の en-

dotoxin 単独注入のみでは、粘膜下の水腫は起こるが mucin 層の消退は認めなかった²⁵⁾。

mucin 層消退の原因については、はっきりとした結論は得ていないが、細菌注入6時間後の膀胱組織にて一部に mucin に取り込まれた状態の細菌が膀胱腔内に認められることから、mucin が細菌を取り込んだ形で粘膜上皮よりはがれて washout されることが考えられた。

mucin 層消退と同時に膀胱粘膜上皮への細菌の附着、粘膜下への侵入が増加すると、粘膜下へ侵入した細菌に対して生体側の反応として、粘膜下へ浸潤した白血球が粘膜上皮に向って上昇、増加し、その白血球により細菌は速やかに貪食をうけるものと考えられた。

E. coli (06) の膀胱内注入6時間後では、粘膜下に侵入した細菌は、白血球に貪食を受けていない“free”の状態のものがほとんどであるが、注入12, 24時間後には貪食されているものが多く、注入3, 7日後では、細菌の粘膜上皮への附着が著しく認められるが粘膜下の細菌はむしろ少なく、そのほとんどが白血球に貪食された状態であった。

Cobbs ら¹²⁾は、細菌が膀胱粘膜上皮の luminal membrane 上に附着している間に多核球によって貪食されると報告し、折笠ら¹⁴⁾も、基底膜は非常に強固であり容易には粘膜下層への細菌侵入を許さないとしながらも、細菌を直接粘膜下層に注入し、7時間後、細菌はすべて多核球により貪食されたとしている。我々の実験結果では、細菌は粘膜下まで侵入するが、粘膜下より増加する白血球により速やかに貪食された。しかも、白血球は著しい増加傾向を示し注入3, 7日後には、白血球に貪食を受けていない細菌はほとんど粘膜下には認められなかったことは、細菌侵入により白血球に対する走化性因子が働いているものと考えられる。しかも、この走化性因子は、細菌のもつ endotoxin により alternative pathway を介する補体の活性化によって起こるものが、最も強力なものと推察されている²⁶⁾²⁷⁾。

マウスやモルモットの感染症例では、細菌局所に分ちから時間の単位で白血球が集合し、10時間後にマクロファージが集合するという²⁸⁾。我々の実験的膀胱炎では、細菌注入2時間後より白血球の増加が認められ、マクロファージは注入6時間後にすでに認められたが、その後一時減少し、3, 7日後に増加しプラズマ細胞は3, 7日後に増加した。Stadler ら²⁹⁾は、マウス実

験膀胱炎において長期感染の状態下では、リンパ球、プラズマ細胞が明らかに増加したと報告している。我々は、細菌注入3, 7日後にも全体の数としては少ないが注入初期にくらべ増加を認め、リンパ球の出現も確認した。このことは、感染による生体側の肉芽性変化とも考えられるが、細胞性免疫の関与も無視出来ないのではないと思われる。

結 語

膀胱炎の発症の過程を検討する目的でマウス膀胱内に *E. coli* (06) 2×10^7 cells/ml を0.05ml (PBS) ずつ経尿道的に注入し、膀胱炎を作製した。この実験モデルを使って、細菌の動態と膀胱粘膜組織の変化及び膀胱粘膜上皮の mucin 層の消退の有無について検討した。

1) 尿中細菌数は、*E. coli* (06) 注入7日後まで平均 10^6 cells/ml 以上認められたが、注入14日後では認めなかった。

2) 膀胱粘膜上皮の mucin 層は、*E. coli* (06) 膀胱内注入2時間後で部分的に消退した。注入6時間後で膀胱粘膜上皮全体に mucin 層の消退が認められた。注入3, 7日後の膀胱粘膜上皮では mucin 層の消退はさらに強く認められ、又 mucin 層の再生はなく、細菌の粘膜上皮への附着、増殖は一段と強く認められた。注入14日後には mucin 層の再生が確認された。この結果より粘膜上皮の mucin 層が細菌の粘膜上皮への附着を防いでいる可能性が示唆された。mucin 層の消退の原因については、はっきりとした結論は得られなかったが、一部 mucin に取り込まれた状態での細菌が膀胱腔内に認められることから、mucin が細菌を取り込んだ形で粘膜上皮よりはがれ、washout mechanism と共に除菌作用に働いていることも考えられた。

3) 細菌の膀胱組織内侵入は、注入2時間後すでに粘膜固有層内に認められ、注入6時間後には粘膜下層に多くの未だ白血球に貪食されていない“free”の細菌を認めた。注入12, 24時間後では、白血球に貪食された細胞が目立つようになる。注入3, 7日後には粘膜上皮に多数の細菌の附着、増殖を認めたが粘膜下には“free”の細菌はほとんどなく、膀胱組織内に侵入した細菌は、粘膜下に浸潤した多くの白血球により、直ちに貪食、処理されるものと考えた。

尚、本論文要旨の一部は、昭和56年6月11日第29回日本化学療法学会総会および昭和57年5月11日第70回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Hanson, L.A., Ahlstedt, Z., Fasth, A., Jodal, U., Kaijser, B., Lasson, P., Lindberg, U., Olling, S., Akernland, A.S. and Eden, C.S.: Antigen of *Escherichia coli*, human immune response, and pathogenesis of urinary tract infections. *J. Infect. Dis.*, 136(Suppl.), 144—150, 1977.
- 2) Glynn, A.A., Brumfitt, W. and Howard, C.J.: K-antigens of *Escherichia coli* and renal involvement in urinary tract infections. *Lancet*, I 513—516, 1971.
- 3) Lindberg, U., Hanson, L.A., Jodal, U., Jonson, G.L., Lincolon, K. and Olbung, S.: Asymptomatic bacteriuria in schoolgirls. II. Differences in *Escherichia coli* causing asymptomatic and symptomatic bacteriuria. *Acta Paediatr. Scand.*, 64, 432—436, 1975.
- 4) Eden, C.S., Eriksson, B. and Hanson, L.A.: Adhesion of *Escherichia coli* to human uroepithelial cells in vitro. *Infect. Immun.*, 18, 767—774, 1977.
- 5) Eden, C.S., Jonson, G.L. and Lindberg, U.: Adhesiveness to urinary tract epithelial cells of fecal and urinary *Escherichia coli* isolates from patients with symptomatic urinary tract infections or asymptomatic bacteriuria of varying duration. *J. Urol.*, 122, 185—188, 1979.
- 6) Cox, C.E. and Hinman, F. Jr.: Experiments with induced bacteriuria, vesical emptying and bacterial growth on the mechanism of bladder defense to infection. *J. Urol.*, 86, 739—748, 1961.
- 7) Norden, C.W., Gree, G.M. and Kass, E.H.: Antibacterial mechanisms of the urinary bladder. *J. Clin. Invest.*, 47, 2689—2700, 1968.
- 8) Kaufman, D.B., Katz, R. and Maintosh, R.M.: Secretory IgA in urinary tract infections. *Brit. Med. J.*, 4, 463—465, 1970.
- 9) 栗山 学: 尿中分泌型 IgA の研究. *日泌尿会誌*, 70, 1129—1141, 1979.
- 10) 西尾 彰, 熊本悦明: 尿中分泌型 IgA に関する研究. [第一報] 各種尿路感染症における分泌型 IgA の検討. *日泌尿会誌*, 72, 810—827, 1981.
- 11) Parson, C.L., Greenspan, C., Moore, S.W. and Mulholland, S.G.: Role of surface mucin in primary antibacterial defense of bladder. *Urology*, 9, 48—52, 1977.
- 12) Cobbs, G.C. and Kaye, D.: Antibacterial mechanisms in the urinary bladder. *Yale J. Biol. Med.*, 40, 93—108, 1967.
- 13) Kaye, D.: Host defense mechanisms in the urinary tract. *Urol. Clin. North Am.*, 2, 407—422, 1975.

- 14) 福士泰夫, 折笠精一: 膀胱の感染防御機構の研究. 細菌の膀胱上皮内侵入過程の電顕像. 日泌尿会誌, 71, 92—103, 1980.
- 15) Shohl, A.T. and Janney, J.T.: The growth of bacillus coli in urine at varying hydrogen ion concentrations. *J. Urool.*, 1, 211—229, 1917.
- 16) Schlegel, J.U., Cvellar, J. and O'dell, R.M.: Bactericidal effect of urea. *J. Urol.*, 86, 819—822, 1961.
- 17) Asscher, A.W., Sussman, M., Waters, W.E., Davvis, R.H. and Chuck, S.: Urine as a medicine for bacterial growth. *Lancet*, II 1037—1041, 1966.
- 18) 景山圭三: 病理組織標本の作り方. 第4版, p. 136, 1973.
- 19) 神谷博文, 平塚博義, 笠井 潔, 石井良文, 小柴博文, 今村正克, 菊地浩吉: ヒト T, B 細胞, 形質細胞, マクロファージの免疫細胞組織化学による同一-PLP 固定, パラフィン包埋法の応用. 臨床免疫, 13(Suppl.), 2, 182—189, 1981.
- 20) Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of Enterobacteraceae, Second ed., p. 139, Burgess Publishing Co., Mineapolis, 1957.
- 21) 上出利光, 石井良文: ラット Fhy-1 抗原: その免疫化学的同定とラットリンパ造血組織における発現の意義. 札幌医誌, 49, 557—568, 1980.
- 22) Davis, C.P., Uehling, D.T., mizutani, K. and Balish, E.: Bladder surface alteration following infection with *Escherichia coli*. in *Scanning electron microscopy*, Vol. II, p. 315, 1978.
- 23) Marion, J.B., Jean, J. and David, J.U.: Bladder mucin: A scanning electron microscopy study in experimental cystitis. *J. Urol.*, 128, 1060—1063, 1982.
- 24) Rodney, F.S. and Norman, P.W.: Rapid plate method for sceening hyaluronidase and chondroitin sulfatase producing microorganisms. *Appl. Micro.*, 16, 1434—1436, 1968.
- 25) 岡山 悟, 熊本悦明: 実験的膀胱炎の感染発症機序に関する研究〔第2報〕Exdotoxin 附加による影響. 日泌尿会誌, 投稿中.
- 26) Ellman, L., Green, I. and Frank, M.M.: Immune function in C₄ deficient guinea pigs: Demonstration of an alternate pathway for activation of the complement sequence. *Clin. Res.*, 19, 440, 1971.
- 27) 角田和之, 大井好忠, 後藤俊弘: 急性単純性膀胱炎に関する臨床的研究. 西日本泌尿器科, 39, 429—439, 1977.
- 28) 野本亀久雄: 感染防御機構とその変動. 第1版, p. 13, 1983.
- 29) Stadler, J., Aronson, M., Medalia, O. and Grifiel, B.: Spontaneous bacterial clearance in experimental urinary tract infection in mice: Cellular aspect of the process. *Nephron*, 25, 288—292, 1980.

(1984年3月16日受付, 特別掲載)