マウス実験肺炎治癒過程における 起炎菌の肺内局在に関する検討

原田知行・宇塚良夫・永武 毅・
力富直人・松本慶蔵*

medical topics

Intrapulmonary localization of causative bacilli in experimental murine pneumonia treated with cefazolin
Tomoyuki Harada・Yoshio Uzuka・Tsuayoshi Nagatake・
Naoto Rikitomi・Keizo Matsumoto

重篤なグラム陰性桿菌性肺炎の化学療法解析を目的として、われわれが確立した致死性肺炎桿菌性マウス実験肺炎モデル（日胸疾会誌 16: 581～588, 1978）において、Cephalosporin 剤治療による肺内生菌数変動を回帰直線によって分析すると、噴霧感染12時間後 Cefazolin (CEZ) 1.5時間毎皮下治療群では、肺内生菌数が第1相（～18時間：急速減少期）、第2相（18～50時間：緩徐減少期）、第3相（50時間～：急速減少期）の3相性パターンを呈しながら減少・消失し肺炎が治癒することが判明している（Chemotherapy 27: 109～115, 801～806, 1979）。肺内生菌数減少が緩徐ないしは停止する第2相の機作に関しては、肺における薬剤の不均一分布あるいは薬剤移行率の低下などが想定されるものの、十分には解明されておらず、また効率のよい化学療法を確立するうえにも肺炎桿菌の肺内局在を明らかにすることが必須であり、今回病理組織学的に検討した。

方 法

(1) マウス実験肺炎作製法

噴霧感染装置により、オス ddY マウス（体重10～15 g）に肺炎桿菌 B-54 株（LD₅₀: 9.7×10⁶ CFU/マウス肺）2×10⁶ CFU/ml 菌液 10 ml を吸入感染させた。

(2) 抗生剤投与法

感染12時間後より CEZ 50 mg/kg を1.5時間ごとに臀部皮下注射し、計30回投与した。また、CEZ 1.5時間毎皮下注射に加え、感染30時間後より gentamicin (GM) 400 mg/10 ml の1回噴霧吸入併用群も併せて検討した。

(3) 肺内生菌数測定法

経時的に脱血屠殺した1群3匹のマウス摘出肺をフルンしてホモジナイズし、滅菌生食水にて希釈し定量培養を行った。

(4) 病理組織学的検索法

噴霧終了直後より96時間までの間の14ポイントにおいて H-E 標本を作製した。肺炎桿菌の肺内局在については、凍結切片で英膜に対する抗血清を用いて蛍光抗体直接法、酵素抗体間接法により検討し、また PAS 染色、グラム染色も行った。

結 果

(1) 肺組織所見

噴霧吸入感染直後では、軽度の congestion および好中球をまじえた単核細胞浸潤のため、肺胞中隔は局所的に肥厚性となっていたが、肺胞構造は一般に保持されていた。以後、好中球浸潤がしだいに明瞭となり、CEZ 治療開始時すなわち感染12時間後では、末梢の細気管支領域を足場とした好中球浸潤巣が散見された。感染15時間後および18時間後（第1相中～後期）においては巣状肺炎像がさらに明らかとなった。また感染18時間後から一部の細気管支腔内には cell debris をまじえた好中球が、内腔を閉塞する形で出現するようになり、これらは第2

相中期の感染36時間まで存続した。第2相に入ると、巣状肺炎像は徐々に軽減し、感染42～48時間後には不明瞭となり、第3相では肺胞壁の軽度の単核細胞浸潤が残存している以外は、気道と肺胞に著変を認めなかった。

(2) 肺炎桿菌肺内局在

噴霧終了直後において肺炎桿菌は末梢の細気管支領域および肺胞内に存在していたが、気管などの上部気道では検出困難であった。第1相でも細気管支腔内、肺胞内に肺炎桿菌が検出され、巣状肺炎病巣内にも認められたが、感染15時間後から肺炎病巣中の一部の肺炎桿菌は CEZ の効果により filamentous となり、菌英膜が不鮮明となってしだいに減少した。第2相に入ると、病巣内肺炎桿菌は検出しがなくなったが、末梢気道内細菌は経過とともに減数するものの、第2相後期の感染48時間まで検出可能であり、以後第3相で消失した。

以上のように、第1相中期から第2相にかけて、肺炎病巣中の肺炎桿菌の多くは CEZ 皮下注射により相当の damage を受けるが、第2相の気道内では長時間に渡って英膜の intact な肺炎桿菌が局在していることから、抗生剤を直接気道内細菌に作用させるべく、第2相の感染30時間後に GM 噴霧吸入1回を併用したところ、CEZ 単独治療群に比し、明らかな肺内生菌数減少および組織学的にも気道内細菌の減数を認めた。

考 察

本実験肺炎モデルの治療過程において認められる3相性肺内生菌数減少パターンは、①薬剤の1回投与量の増量、②抗菌力の強い薬剤の使用、③薬剤投与間隔の短縮、④他剤の併用などの治療内容の強化により、第1相・第3相の傾きをより急峻化させ、第2相の持続時間のある程度まで短縮できることが、これまでのわれわれの検討により明らかとなっている。

今回の病理学的検討によって、第2相での細気管支領域における肺炎桿菌の局在を明らかにできたことは、気道内への抗生剤移行が十分でない可能性を示唆するものであり、このことが第2相の肺内生菌数減少の緩徐・停止に関しての一因と考えられる。また第2相の気道内肺炎桿菌は、噴霧直後より気道内に停まって存在しているものに加えて、肺炎病巣中の肺炎桿菌がより中枢側の末梢気道へ好中球とともに喀出され、移行してきた可能性がある。

以上より抗生剤を直接気道内の細菌に作用させ、効率のよい治療を行う手段の一つとして、抗生剤吸入療法併用が有効であると考えられる。

* Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University 長崎大学医学部熱研内科