ブドウ球菌性骨髓炎および筋炎における 起炎菌の特異性に関する実験的研究

馬 場 孝

群馬大学医学部第一外科学教室 (主任: 石原恵三教授)

Tompson 及び Dubos (1938)¹⁾は、人の肺炎より分離したブドウ球菌を家兎の静脈内に接種し骨髓炎を発症させ、その病巣より分離した菌を用いて家兎の静脈内に接種すると、骨髓炎を発症しやすいと報告した。石原ら (1955)²⁾は、日本でしばしば観察される急性化膿性筋炎が骨髓炎と同様に血行性に発生して、時には多発することがあるにもかかわらず、同一患者に両者の合併することを見ない臨床経験にもとづき、これら菌株にはそれぞれ異なる組織親和性があると想定し、これを支持する実験的研究を発表した。実験的ブドウ球菌感染症は、動物種によっても違うが、一般に多量 ($10^7 \sim 10^8 / \text{ml}$) の菌接種を必要とする。著者は Nitromin によって、あらかじめ抗菌力を低下^{3,4)}させた家兎においては、人体実験によって確められたブドウ球菌の有効最小菌量 ($10^6 / \text{ml}$)⁵⁾以下の菌量をもって化膿症を起こし得ることを認めたので、この方法によってブドウ球菌の菌特異性を再検討した。

実験材料と方法

実験動物は生後3～4週の幼若兎を使用した。

使用菌株は、何れも当科にて治療した患者の急性期病巣より分離したコアグラゼ陽性、黄色ブドウ球菌で、骨髓炎由来5株、筋炎由来4株で、このほか対照として乳腺炎および癰由来菌株各3株を用いた。これらのフェージ型は表1の如くである。これら菌株は heart infusion agar を用い、1～2カ月の間隔で継代培養したものを用いた。

1. 骨および筋肉の生菌数算定法

正常家兎に菌接種後の骨および筋内に於ける菌分布を調べるために、骨髓炎由来3株と筋炎由来3株、乳腺炎および癰由来のおの1株を用い $10^8 / \text{ml}$ の菌液を家兎体重100gあたり0.1mlを耳静脈内に接種した。生菌数算定には菌接種後1時間、3時間、6時間、12時間および48時間でそれぞれの羽を殺し、ただちに無菌的操作により、骨では左右別々に大腿骨、脛骨および

表1 使用菌株

分離 病巣	菌株番号	フェージパターン
骨 髄 炎	K-4522	71
	K-4400	85
	K-3350	3 B / 3 C / 55 / 71
	K-3870	80 / 81
	K-3534	29 / 52 A
筋 炎	K-4750	80 / 81
	K-3375	29 / 52 A
	K-2871	29
	K-4001	29 / 52 A / 80 / 81 / 42 E
乳 腺 炎	K-4546	29 / 52 A / 79
	K-2853	79
	K-3853	79
癰	K-4632	3 B / 3 C / 55 / 71
	K-2898	80
	K-3723	80

上腕骨の上骨端部を摘出し、筋では左右の大腿四頭筋、外腹斜筋および上腕三頭筋の一定部を摘出して重量を計測した。これらに生理的食塩水10mlを加え10分間ホモジナイズし、1500回転、3分間遠沈後、これより1mlをとり、7.5%食塩加寒天培地に流し、3層法によって生菌数を調べ、検体それぞれ1gあたりの菌量を算定した。

Nitrominによる前処置、Nitrominは家兎体重100gにつき0.8mgを耳静脈内に3日間連続投与し、24時間後に一定の菌量を耳静脈内に菌接種した。

2. Nitromin 投与家兎血清の抗菌力判定法

家兎血清のブドウ球菌に対する抗菌力をみるには、骨髓炎由来株K-3870、筋炎由来菌株K-4750、乳腺炎由来菌株K-4546および癰由来株K-3723を用いた。生理的食塩水にて $10^3 / \text{ml}$ の菌液をつくり、この菌液0.1/mlを Nitromin 投与家兎血清0.9mlに加えてよく混和したのち37°Cの孵卵器に納め、これより4時間、8

時間, 12時間, 24時間後にそれぞれ0.1mlをとり出して普通寒天培地に流し, 3層法により生菌数を算定し, 菌生存率をみた. 対照として無処置家兎血清を使用した.

3. 骨髓炎および筋炎の発症実験

Nitromin で前処置をした家兎1群を5羽とし, 各菌株について実験した. 各菌株で $10^4/\text{ml}$ の菌液を作り, 家兎体重100gにつき0.1mlを耳静脈内に接種した. 発症の判定には菌接種後3日, 5日, 7日, 10日14日, 21日目に全身のレントゲン撮影を行い, 21日目に殺し, レントゲン像と剖検によって骨および筋の病巣を検索した.

実験成績

1. ブドウ球菌静脈内注射後の骨および筋における菌数の変動

(1) 骨髓炎由来菌K-3870, K-3350, K-4522株を用いて骨および筋内の生菌数を調べた. 図1にみられるように, 骨内では注射後3時間, 6時間, 12時間および24時間では菌数に多少の変動はあるが, 48時間には各菌株ともに著明に増して1時間値に比べて有意の増加 ($P < 0.05$) を示した. これに対して筋内では変動が少なく, 48時間値でも有意の増加を見ない. また骨のうち大腿骨, 脛骨および上腕骨における菌数でも相互間に差がなく, また筋内では大腿四頭筋, 外腹斜

図1. 骨髓炎由来ブドウ球菌静注後の骨および筋組織における菌数.

K-3875, K-4522, K-3350: 骨髓炎由来菌株.

筋および上腕三頭筋の間にも差はみられない.

(2) 筋炎由来菌K-4750, K-4001, K-3375を用いてしらべた生菌数は, 図2に示すごとく, 各菌株とも筋内では増加傾向を示し, 6時間以後は有意に ($P < 0.02$) 増すが, 骨内では減少傾向をあらわし, 2株は48時間後に有意に ($P < 0.01$) 減少した. なお大腿四頭筋, 外腹斜筋および上腕三頭筋の間では筋内菌数に有意差がなく, また大腿骨, 脛骨および上腕骨の間でも有意差がない.

図2. 筋炎由来ブドウ球菌静注後の骨および筋組織における菌数.

K-4750, K-4001, K-3375, 筋炎由来株.

(3) 乳腺炎由来菌K-4546株および癰由来菌K-3723株を用いた結果は, 図3に示すごとく両者とも骨内では菌数が減少傾向を示し, 筋内ではほぼ増減なく経過した.

ブドウ球菌を家兎の静脈内に注射すると, 骨髓炎由来菌株は骨内の菌数が増加傾向をしめして48時間後には有意に増加するが, 筋では菌数の変動がみられない. これに対して筋炎由来菌株は筋内で菌数が著明に増加傾向をみせ, 6時間より有意に増加する. 対照の乳腺炎または癰由来菌株は, 骨髓炎由来菌の筋内における如く, また筋炎由来菌の骨内における如き菌数の変化傾向を示すにすぎない.

2. Nitromin投与家兎血清の抗菌力.

使用した菌株は, 骨髓炎由来菌K-3870, 筋炎由来菌K-4750株, 乳腺炎由来菌K-4546および癰由来菌K-

—3723株で、Nit-romin 処置家兔血清中における菌生存率を調べる。10³の菌量を Nitromin 処置家兔血清 0.9ml 中で培養して菌数の変化を追跡した結果、図4にみるように、接種後4時間には各菌種とも Nitromin 処置血清でも、無処置血清でも菌生存率は約80%に減少するが、8時間には無処置血清では30%に減少するに対し Nitromin 処置血清では僅かに減少する程度(70%)に止まり、12時間には無処置血清では無菌となるにNitromin 処置血清では菌数が逆に回復して著しい差がみられた。

図3. 乳腺炎、癰由来ブドウ球菌静注後の骨および筋組織における菌数。
K-4546乳腺炎由来株、K-3723癰由来株。

3. 骨髓炎および筋炎の発生実験

菌接種家兔は、接種後全身状態では、不活発となり食欲減退、下痢、体温の上昇(39.5°C—41.2°C)及び白血球数の増加(10,000—23,000)がみられ、局所所見では、腫脹、跛行がみられるものもある。レントゲン検査で骨病巣は、7日目より骨病変が表われるが、多くは10日～14日頃より陰影は明確になり、21日には遊離骨影がみられる。剖検所見では、骨病巣は骨膜肥厚、骨膜下膿瘍形成及び軟部組織にも膿瘍形成がみられる。筋病巣は表面が黄白色を呈した大小の膿瘍形成を認め、周囲に発赤腫脹がみられた。

骨髓炎由来菌株接種群は、表2のごとく、70羽のうち45羽(64%)に骨髓炎を発し、このうちで筋炎を合

図4. Nitromin 投与家兔血清中の菌生存率
K-3870骨髓炎由来株、K-4750筋炎由来株、K-4546
乳腺炎由来株、K-3723癰由来株。

併したのが5羽(7%)あり、筋炎だけを起したものはない。骨髓炎のみの発生率は53～60%(平均57%)で各菌株間に有意差がない。骨病巣数は82か所、大腿骨34、脛骨24、肋骨12、骨盤6、足根骨5及び椎骨1となり、各菌株間には著しい差がみられない。筋炎を合併したものは2株あって、膿瘍は12カ所に発生し、腹筋7、大腿筋3及び腸腰筋2であった。

筋炎由来菌株についてみると、接種家兔43羽のうち28羽(65%)に筋炎がみられ、このうちで骨髓炎を合併したものが5羽あり、骨髓炎のみ発生したのが1羽あった。筋病巣数は75か所で腹筋25、大腿筋23、胸筋15、腸腰筋5、臀筋4、心筋3となり、各菌株間に著しい差がみられない。骨髓炎を合併したのは4株中3株あって、大腿骨3、脛骨2、肋骨2、骨盤および足根骨1となる。

乳腺炎由来菌株では接種家兔20羽のうち6羽に筋炎、2羽に骨髓炎、そして2羽に筋炎と骨髓炎が併発し、筋炎発生率は40%、骨髓炎のそれは20%であり、3菌株のうち1菌株は筋炎のみを発生した。病巣数は24で骨では脛骨3、肋骨および足根骨各1、筋では腹筋8大腿筋6、胸筋4、腸腰筋1となる。

癰由来菌株では、接種家兔20羽のうち6羽に筋炎、2羽に骨髓炎、そして3羽に骨髓炎と筋炎が併発し、筋炎発生率は45%、骨髓炎のそれは25%であり、3菌株のうちで1菌株は筋炎だけを発生した。病巣数は21で、骨では肋骨3、脛骨2、足根骨1、筋では大腿筋

図5. 家兎右大腿骨骨髓炎のレントゲン写真
骨髓炎由来菌 (K-3870) 接種後7日目に骨端線
に近く骨病変 (矢印) 現われる。

図6. 図5. と同じ家兎の骨髓炎, 菌接種後10日目の
レントゲン写真
(骨の変化 (矢印) がいっそう明瞭となる)。

図7. 家兎骨髓炎のレントゲン写真
骨髓炎由来菌 (K-3350) 接種後21日目に大腿骨
中間部に遊離骨影 (矢印) が現われる。

図8. 家兎の腹筋に発生した膿瘍の写真
筋炎由来菌 (K-3375) 接種後21日目に剥皮後筋
膜を透して筋内に黄白色の膿瘍がみえ, 周囲に発赤
腫脹がある。

表 2 各種菌株による骨髓炎および筋炎の発症

分 離 病 巢	菌 株 番 号	実 験 動 物 数	発 症 数							
			骨 髓 炎		筋 炎		骨髓炎筋炎合併		合 計	
			動物数	病巢数	動物数	病巢数	動物数	骨病巢 筋病巢	動 物 数	病 巢 数
骨 髓 炎	K—4522	15	8	13	0	0	2	$\frac{5}{4}$	10	22
	K—4400	5	3	7	0	0	1	$\frac{2}{3}$	4	12
	K—3350	20	11	19	0	0	2	$\frac{2}{5}$	13	26
	K—3870	10	6	13	0	0	0	$\frac{0}{0}$	6	13
	K—3534	20	12	21	0	0	0	$\frac{0}{0}$	12	21
	合 計	70	40	73	0	0	5	$\frac{9}{12}$	45	94
筋 炎	K—4750	15	0	0	7	19	3	$\frac{4}{9}$	10	32
	K—3375	10	1	2	5	9	1	$\frac{1}{3}$	7	15
	K—2871	9	0	0	6	17	1	$\frac{2}{4}$	7	23
	K—4001	9	0	0	5	14	0	$\frac{0}{0}$	5	14
	合 計	43	1	2	23	59	5	$\frac{6}{16}$	29	84
乳 腺 炎	K—4546	10	1	2	3	7	1	$\frac{1}{2}$	5	12
	K—2853	5	1	1	1	2	1	$\frac{1}{2}$	3	6
	K—3853	5	0	0	2	5	0	$\frac{0}{0}$	2	5
	合 計	20	2	3	6	15	2	$\frac{2}{4}$	10	24
瘤	K—4632	10	1	2	3	4	2	$\frac{1}{2}$	6	9
	K—2898	5	1	2	1	2	1	$\frac{1}{3}$	3	8
	K—3723	5	0	0	2	4	0	$\frac{0}{0}$	2	4
	合 記	20	2	4	6	10	3	$\frac{2}{5}$	11	21

9, 腸腰筋5, 腹筋1となる。乳腺炎及び筋炎に由来する菌では大腿骨に病変が出なかった点が注目される。以上の結果より乳腺炎および瘤の起炎菌は、ともに骨髓炎よりも筋炎をより多く起すが、筋炎の発生率は筋炎由来菌より少なく、骨髓炎の発生率は骨髓炎由来菌よりもはるかに少なく、有意差 ($P < 0.001$) がある。

考 按

化膿性骨髓炎は、古く Lexer⁶⁾ 以来、ブドウ球菌が長管骨中間部の小血管に細菌性栓塞をきたし発症する

ものとされ、その成因には発育期の血管状態のほか、局所の外傷、うっ血⁷⁾、アスコルビン酸の欠乏⁸⁾など、宿主がわの原因が追究されている。骨髓炎と筋炎とが同じくブドウ球菌の血行感染で起るとする場合に、この両者が同一患者で併発しない点でブドウ球菌の単一性については疑問がもたれる。教室のさきの報告によると、骨髓炎および筋炎より分離した菌株を幼若家兎の骨髓内に接種すると、前者は長管骨に、後者は骨格筋に膿瘍を作る傾向がはなはだ著明である。今回の実験では従来使用されている幼若家兎に対し、できるだけ少ない菌量のブドウ球菌を用いて発症させる

ために、Nitromin の前処置法を採用した。その結果 $10^4/\text{ml}/100\text{g}$ の菌量を家兎耳静脈内に接種して、罹患率は60%近くに達した。骨髓炎由来菌株の接種では、骨髓炎は70羽中の45羽 (64%) に発症し、このうち5羽は筋炎を併発したが、筋炎だけの発生はなかった。発生部位は大腿骨が最も多く、脛骨、肋骨、骨盤、足根骨の順である。つぎに筋炎由来菌株では、43羽中の28羽 (65%) に筋炎が発生し、このうち骨髓炎だけの発生が1羽ある。これに対し、乳腺炎および癰由来株では、40羽中12羽 (30%) で筋炎が、4羽 (10%) で骨髓炎が、5羽 (12.5%) で筋炎と骨髓炎が発生し、その発生部位は筋では大腿筋、腹筋、胸筋、腸腰筋で、骨では脛骨、肋骨、足根骨に見られたが、大腿骨には見られなかった。なおブドウ球菌の静脈内注射後に骨および筋組織内における生菌数をみても、骨髓炎由来菌は24—48時間で骨内では増加傾向を示し、筋内ではこの傾向が見られないが、筋炎由来菌は筋内で6時間以後有意に増し、骨内ではかえって減少傾向を示し、また乳腺炎および癰由来菌は24時間に骨内ではやや減少し筋内ではやや増したが著明な増減はみられない。以上の所見から化膿性骨髓炎および筋炎の起炎菌となるブドウ球菌は相互に、また乳腺炎および癰の病原ブドウ球菌とも異なる病因的性格をそなえていることがうかがわれる。

総 括

正常幼若家兎を用いて、化膿性骨髓炎、筋炎、乳腺炎および癰から分離したブドウ球菌を静脈内注射し、骨および筋組織内の生菌数を算定してみると、骨髓炎由来菌は筋組織内ではあまり変化がないが、骨組織内では48時間後に増加傾向がみられた。これに対し、筋炎由来菌は筋組織内では6時間後より有意に増加したが骨組織内では減少傾向を示した。たほう、乳腺炎および癰由来菌は骨組織と筋組織内に有意な変化をきたさなかった。

Nitromin 前処置幼若家兎にブドウ球菌を静注して骨髓炎および筋炎の発症状態をみると、骨髓炎由来菌では70羽中45羽 (64%) に骨髓炎が発生し、このうち5羽に筋炎を併発したが筋炎だけの発生はない。たほう筋炎由来菌では筋炎が43羽中の28羽 (65%) に発生しこのうち5羽に骨髓炎が併発し、ほかの1羽に骨髓炎を見た。これに対し、乳腺炎および癰由来菌では40羽のうち12羽 (30%) に筋炎が発生し、4羽 (10%) に骨髓炎、5羽 (12.5%) に筋炎と骨髓炎の併発がみられた。骨髓炎は大腿骨が最も多く、脛骨、肋骨、骨盤、足根骨、椎骨の順で、筋炎は腹筋と大腿筋が最も多く胸筋、腸腰筋、臀筋、心筋の順であり、菌株別による差は明らかでない。

化膿性骨髓炎および筋炎の起炎菌となるブドウ球菌は相互に、また乳腺炎および癰由来菌とも異なった病因的性格をそなえていると推論される。

摘筆するに当たり、御指導と御校閲を賜った恩師石原恵三教授をはじめ田島昭三助教授、教室員各位に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Thompson, R. H. & R. J. Dubos: J. Exp. Med., 68: 191, 1938.
- 2) 石原, 原田, 神部, 若尾: 日本外科誌, 56: 574, 1955.
- 3) Derby, B. M. & D. E. Rogers: J. Exp. Med., 113: 1053, 1961
- 4) 森谷: 日本医学放射線学会誌, 15: 610, 1955.
- 5) Elek, S. D. & P. E. Conen: Brit. J. Exp. Path., 38: 573, 1957.
- 6) Lexer, E.: Arch. Klin. Chir., 48: 181, 1894.
- 7) Rosenbach, F. J.: Mscht. Unfallheilk., 46: 598, 1939.
- 8) Takahashi, R.: Arch. klin. Chir., 181: 103, 1934.

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE SPECIALITY OF STAPHYLOCOCCAL
STRAINS CAUSATIVE PURULENT OSTEOMYELITIS AND MYOSITIS

TAKASHI BABA

Department of Surgery I, Gunma University,

School of Medicine, Maebashi, Japan.

(Director : prof. Keizo Ishihara)

Animal experiments have shown evidences in support of a hypothesis that some special strains of staphylococci are responsible for the development of staphylococcal infection of various tissues.

Firstly, of intravenously inoculated staphylococci obtained from surgical patients of purulent osteomyelitis, myositis, mastitis and furuncle, osteomyelitic staphylococci were recovered more numerous from bone tissues of young rabbits after 48 hours than those of other sources, and myositic staphylococci were similarly recovered from muscles after 6 hours. In contrast, other strains showed no special findings.

Secondly, young rabbits rendered susceptible to infection by pretreatment of Nitromine were intravenously injected with a small dose of staphylococci (10^4 /ml) of origins mentioned above.

The results have shown osteomyelitic and myositic staphylococci caused respectively osteomyelitis and myositis more frequently (64—65%) than other cocci.