

# モルモットによる実験的急性化膿性中耳炎の 病理学的所見(第1報)

順天堂大学耳鼻咽喉科学教室(主任:河村正三教授)

藤 卷 豊・河 村 正 三・市 川 銀一郎

杉 田 麟 也・堀 川 治 久

東京総合臨床検査センター研究部

出 口 浩 一

## はじめに

小動物に中耳炎を発症させ、抗生物質の薬効評価や中耳への抗生物質の移行性を検討する目的の第一段階として、モルモットに小児急性化膿性中耳炎から分離した生菌を接種し、中耳炎を発症させ、急性期の病理学的所見を観察し知見を得たので報告する。

## 実験および観察方法

使用動物にはモルモット(Hartley系, SP F), 3~5週令, 体重180~230gを用いた。急性化膿性中耳炎が小児に多いため、実験手技上また飼育上問題の少ない可及的若令のモルモットを用いて実験を行った。

使用菌には小児急性化膿性中耳炎より分離したStreptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae,  $\beta$ -streptococcus group Aを用いた。菌は3代継代培養し、菌量は $10^{7CFU/ml}$ に調整した。他に、対照として、Trypticase soy brosh, 生理生塩水を用いた。いずれも0.1mlをエーテル麻酔末に中耳腔内に、顎下部より骨包を露出し27G針にて注入した。他に、骨包に穿孔を開けたのみおよび無処置群も対照群とした。飼育は温度および湿度一定の無菌室にて行った。

観察は実験操作後1日目より4日目までの間行った。観察日に20%ホルマリン液を用いて灌流固定し、脱灰後パラフィン包埋し、標本を作製した。Hematoxylin-Eosin 染色

後鏡見した。

炎症の程度はgrade 0~grade IIIの4段階に分類した。grade Iは炎症細胞浸潤の軽度なもの、grade IIIは中耳粘膜は著明に肥厚し、炎症細胞浸潤は高度で、中耳腔内に膿汁を認め、鼓膜にも炎症の及んでいるもの、grade IIはgrade Iおよびgrade IIIの中間程度の炎症状態にあるものとした。grade 0はほとんど炎症を認めないものとした。

## 結 果

### 1. 菌接種群

(1) H.influenzae接種群:12匹, 24耳に, H.influenzaeを接種した。図1に示す如く, 1日目に3匹観察し, grade I:4耳, grade II:2耳であった。2日目では, grade 0:2耳, grade I:6耳, grade II:2耳であった。3日目では, grade 0:6耳, grade I:2耳であった。炎症を生じなかった例が2日目で20%, 3日目で75%に認めた。

(2)  $\beta$ -streptococcus group A接種群:6匹, 12耳に $\beta$ -streptococcus group A接種した。1日目および2日目では炎症の程度は, grade Iが1耳, grade IIが3耳であった。4日目ではgrade Iが2耳, grade IIが2耳であり, 全例とも4日目まで炎症を認めた。

(3) Streptococcus pneumoniae接種群:6匹, 12耳にS.pneumoniae接種を行った。観察は第1, 2, 4日目に各2匹ずつ行った。

1日目では, grade II : 1耳, grade III : 3耳, 2日目では, grade II : 2耳, grade III : 2耳, 4日目では, grade I : 1耳, grade II : 2耳, grade III : 1耳であった。grade IIIを占める比率は, 1日目:75%, 2日目:50%, 4日目:25%であった。

## 2. 対 照 群

(1) TCS broth 接種群:16匹, 32耳にTCS brothを接種した。grade Iが1日目:5耳, 50%, 2日目:2耳, 20%, 3日目:1耳, 17%に認めた。4日目では全例ともgrade 0であった。

(2) 生理食塩水接種群:7匹, 14耳に生食を接種した。炎症を認めたものは1日目:grade I, 3耳, 50%, 2日目:grade II, 1耳, 25%であり, 3日目では全耳ともgrade 0であった。

(3) 穿孔のみの群:7匹, 14耳に穿孔のみ設た。全観察日にgrade Iを認め, 1日目, 2耳, 50%, 2日目, 1耳, 12.5%, 3日目, 1耳, 50%であった。

(4) 無処置群:6匹, 12耳を無処置群として観察した。1日目ではgrade I, 1耳, 12.5%, grade III, 1耳, 12.5%であった。2日目, 3日目では全例grade 0であった。

## 考 按

今回の中耳炎モデルの作製では, 動物入手および取り扱いが容易であること<sup>1) 2)</sup>, および, 自然感染中耳炎および内耳炎の罹患頻度が少<sup>3)</sup>いことなどを考慮し, モルモットを対象動物とした。

菌量については, 予備実験において, 今回と同様の手技にて,  $10^{3-4}$ CFU/mlに調整した菌液を用いたが, 炎症のgradeは0~Iがほとんどであった。このため, 菌量を $10^7$ CFU/mlに設定した。

炎症状態の病理所見は分類の項に示した如くであり, Alson<sup>3)</sup>らのラットを用いた報告と類似したが, モルモットでは慢性化の傾向は

認めなかった。

さて, H.influenzae,  $\beta$ -streptococcus group A, S.pneumoniaeの起炎性に言及する前に, まず, 4対照群の結果を観察すると, 各群とも炎症所見を呈する頻度は低い。しかもその程度は, grade Iがほとんどであり, grade II, grade IIIを示したのは各1耳のみであった。また, 全対照群にて, 炎症所見を認めたものは1日目に43%, 2日目に17%, 3日目に14%であり, 4日目では0%であった。以上より, 実験手技上の問題が中等度あるいは重症度の中耳炎を生じる可能性は少く, また, 軽症例では自然治癒傾向にあるかと思われる。

次に, 臨床分離株接種例では, S.pneumoniae,  $\beta$ -streptococcus group A, H.influenzaeの順序で, gradeの大なものが多く, 起炎性も大であるかと思われる。

H.influenzaeでは, 2日目, 20%, 3日目, 75%に炎症所見を認めなかった。これは, H.influenzaeはモルモットでは起炎性が弱く, 対照群と同様に自然治癒傾向を示したためかと思われる。

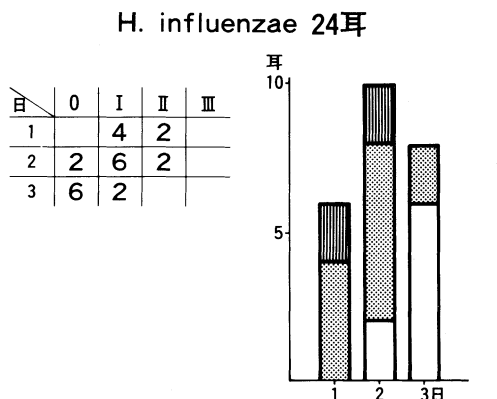
$\beta$ -streptococcus group AおよびS.pneumoniae接種群では全耳に炎症を認め, 特に, S.pneumoniae接種群では炎症が軽度なものは4日目の1耳のみであり, 本群では, 中等度以上の炎症が生じ, かつ炎症状態が持続し易いかと考えられる。これは, Olsonらの報告とも一致した。中耳粘膜は正常モルモットではひじょうに菲薄であり, しかも, その粘膜を骨包より剝離することは困難である。またその重量も両側耳合せて2~3mg程度である。一方, grade II~IIIの中耳粘膜は, 肉眼的には浮腫状で, 発赤が強く, 剝離は比較的容易であり, その重量も両側耳合せて10~15mg程度である。

今回の実験より, S.pneumoniaeのモルモットに対する中耳炎の起炎性は大であると思わ

れた。今回の観察は4日目までであったが、  
 今後はこの炎症状態の観察期間を延長し、炎  
 症状態を経続させること、そして、慢性炎症  
 モデルの作製を試みたい。また、炎症状態に

ある中耳粘膜への薬剤の移行の測定、および、  
 薬剤投与による中耳炎治療実験も行いたいと  
 考えている。

表1 菌接種後の炎症度



**β-streptococcus group A 12耳**

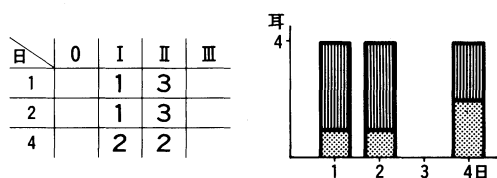
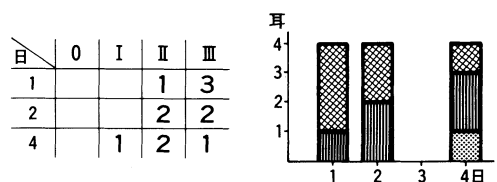


表2 菌接種後の炎症度

**S. pneumoniae 12耳**



**TCS broth 32耳**

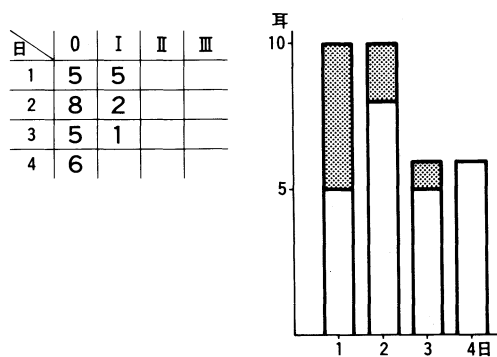


表3 実験後の炎症度

**生食 14耳**

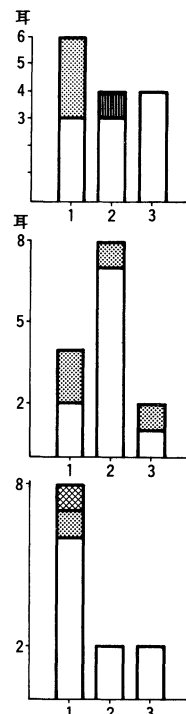
日	0	I	II	III
1	3	3		
2	3		1	
3	4			

**穿刺のみ 14耳**

日	0	I	II	III
1	2	2		
2	7	1		
3	1	1		

**無処置 12耳**

日	0	I	II	III
1	6	1		1
2	2			
3	2			



ま と め

小児急性化膿性中耳炎より分離した菌株を用いて、モルモット急性化膿性中耳炎モデルを作製した。

使用菌には、S.pneumoniae、β-streptococcus group AおよびH.influenzaeを用いた。対照群として、TCS broth群、生食群、穿孔群および無処置群を設定した。

S.pneumoniae、β-streptococcus group A群では、4日目までの観察で全群に炎症所見を認めた。炎症の程度はS.pneumoniae群がβ-streptococcus group A群に比し大であった。

H.influenzae群では、2日目までには87.5%に炎症を認めたが、3日目では25%にgrade Iの炎症を認めたのみであった。

対照群では、一部を除き、実験3日後にはほとんど炎症所見はなく、炎症所見を認めた例もその程度は軽微であった。

モルモットにおいて、*S.pneumoniae*,  $\beta$ -streptococcus group Aの中耳炎の起炎性は大であると思われた。

## 文 献

- 1) 秋吉正豊：実験動物の病理組織，10，聴器，456～479，ソフトサイエンス社：1980
- 2) 田嶋嘉雄他：実験動物学，66～76，朝倉書店，1975
- 3) Olson, L.D., et.al：Histopathology of otitis media in the rat. *Lob. Anim. Sci.* 18, 478～485, 1968

---

## 質 疑 応 答

**質問** 茂木五郎（大分医大）

- ①死亡する動物の割合
- ②接種菌数
- ③患者からの菌分離から接種までの過程

**応答** 藤巻 豊（順大）

予備実験にて $10^{3\text{CFU}}$ /mlの菌液では中耳炎が発症しなかった。臨床分離株をただちに3代継代培養して $10^{7\text{CFU}}$ /mlと調整し実験に用いた。1週間後まで炎症が持続した例は少なかった。予備実験も含めて200匹約400耳に検討したが、実験後死亡したモルモットは数％に認めた。炎症を持続させる目的で実験を続けている。

**応答** 河村正三（順大）

7日頃までに自然治癒するものが多いので中耳炎の薬剤効果をみるのにはまだ問題があるので、現在、自然治癒が遅くなるような予備実験を行っている。

**追加** 佐藤喜一（金沢医大）

標本作成について

- ① セロイジン切片による方法をおすすめしたい。
- ② Wittiuoack氏固定液は公害の問題から望ましくない。