

# 嫌気性菌 *Bacteroides fragilis* による実験的副鼻腔炎

大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科教室 (主任: 中井義明教授)

愛 場 庸 雅・杉 山 正 夫・木 原 匠 子

大 橋 淑 宏・原 田 博 文・丸 岡 健 一・中 井 義 明

新潟大学細菌学

松 山 東 平

## はじめに

近年、副鼻腔炎の起炎菌として、嫌気性菌の重要性を強調する報告が増えてきつつある。一方、実験的副鼻腔炎に関する研究は古くから行なわれているが、嫌気性菌については馬場<sup>1)</sup>の論文をみるのみである。また、偏性嫌気性菌が皮膚、粘膜等に常在し、しかも好気性菌より優位を占めているのは既知の事実であるが、何故この様な一見好气的環境に嫌気性菌が存在するのかは不明である。グラム陰性偏性嫌気性菌である *Bacteroides fragilis* (以下 *B. fragilis* と略す) は、腸管や口腔粘膜に常在する。この菌が副鼻腔炎の起炎菌となり得るか否か、また一旦感染すると定着し得るか否か、更にこの菌の感染が他の菌との混合感染を誘発し得るか否かを知る目的で以下の研究を行った。

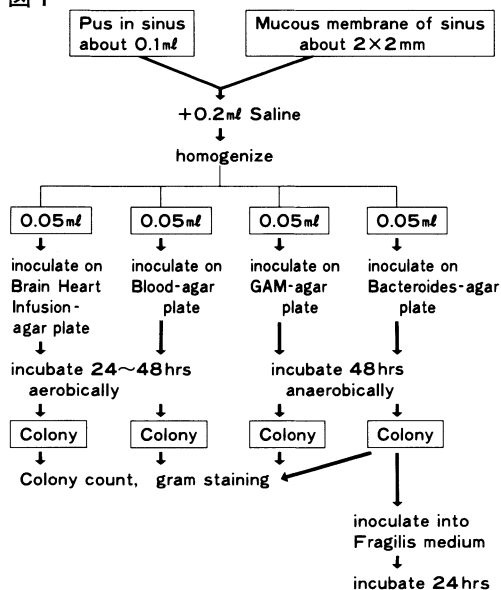
## 方法と材料

1. 実験動物：体重2.5kg前後の鼻炎症状を認めない健康白色家兎。
2. 使用菌種と上顎洞への感染実験方法：*B. fragilis* ATCC29762の一白金耳を、肉汁ブイヨン培地で37℃にて48時間培養し、 $1 \times 10^9$  CFU/mlに調整した菌液と、等量の普通寒天培地を45℃にて混合し、*B. fragilis* の半流動寒天(1.5%)を作り、この0.5mlを、家兎顔面より経皮的に上顎洞内に注射器で穿刺注入した。菌注入は隔日に行い、注入回数を1回(1羽)の家兎、3回(3羽)、5回(6羽)、7回(1羽)と4群に分けた。対照には等量の生理食塩水

を注入した。最終の菌注入後5月~10月の間に屠殺剖検した。

3. 感染上顎洞の検索：上顎洞を開き、上顎洞内の状態を観察した後、洞内の膿汁と粘膜の細菌学的検討と粘膜の組織学的検討を行った。細菌検査は図1に示す様な方法で、膿汁を生理食塩水でホモジナイズしたものを検査材料とし、膿汁のない症例では、粘膜を生理食塩水でホモジナイズしたものをを用いた。増殖培養は好気培養と嫌気培養の両方を行った、同定検査で、*Bacteroides* 培地に増殖した菌について *fragilis* 培地で同定を行った。更に *B. fragilis* の同定に抗 *B. fragilis* 多価蛍光抗体試薬フルオレテック F システムセット (Pfizer社) を用いて同定を行った。

図 1



## 結 果

表1に示す嫌気培養で増殖した菌は、全てグラム陰性桿菌でそのコロニー形態、Bacteroides培地とFragilis培地での増殖、フルオレテックFテストシステムを用いての蛍光抗体法による菌の確認から、B.fragilisと同定した。

B.fragilisの1回の注入では、上顎洞からB.fragilisは分離されなかった。しかしこの1回注入の右上顎洞からは好気性グラム陽性球菌が分離された。3回注入した4羽中3羽には膿汁を認め、膿汁の認められなかったNo.4からは菌の分離が出来なかった。膿汁の認められた3羽のうち1羽はB.fragilisのみが分離され、別の1羽(No.2)はB.fragilisと好気性菌の混合感染で、残りの1羽(No.3)は、B.fragilisは認められず、好気性菌のみが分離された。

5回以上注入した7羽全てに膿汁を認めた。5回注入した6羽のうち3羽は混合感染を起こしたが、他の3羽は、B.fragilisのみが分離され混合感染は認められなかった。7回注入した1羽(No.12)ではB.fragilisのみが分離された。

3回注入群、5回注入群でB.fragilisが分離された家兎の上顎洞粘膜の組織像を図2に示す。3回注入群では上皮の配列の乱れ、固有層の炎症細胞浸潤、浮腫がみられ、5回注入群では上皮の障害が更に強く、空胞状変性、一部扁平上皮化を思わせる所見もみられ、上皮層にも炎症細胞の浸潤が著明であった。

## 考 按

嫌気性菌培養法の進歩に伴い、副鼻腔炎の起炎菌に関する報告でも嫌気性菌の重要性を強調する報告が増えつつある。その頻度は、馬場<sup>1)</sup>は15.1%、藤巻<sup>2)</sup>は32%、Frederick<sup>3)</sup>は69%、Karma<sup>4)</sup>は18%、Brook<sup>5)</sup>に至っては100%に認められたとしている。その内で菌種別に頻度をみると、最も多いのはPeptococcus、

Peptostreptococcus等のグラム陽性球菌群であるが、次いで多いのはグラム陰性桿菌で、その中でもBacteroides属が最も一般的である。

一方実験的副鼻腔炎とその病理形態等に関する研究は、過去に数多くなされているが、嫌気性菌を用いたものは、馬場<sup>1)</sup>の論文をみるのみである。その報告ではグラム陽性球菌であるPeptococcus anaerobiusを用いているが、今回我々が用いたB.fragilisは偏性嫌気性グラム陰性桿菌で、Peptococcusより毒性が低いと考えられ、しかも上部気道、腸管、性器常在する菌である。この菌は至適温度は37℃で、2~8%以上のO<sub>2</sub>濃度では増殖出来ず、肺膿瘍、脳膿瘍、膿胸等の原因菌となり得、ウサギ、モルモット、マウス等で皮下膿瘍を形成する事が報告されている<sup>6)</sup>。

今回の実験では、3回注入群にて約半数に、5回注入群にてほぼ全例に、膿汁からのBack CultureにてB.fragilisが同定された事により、注入菌量のある程度以上にするか、あるいは注入を反復する事により、B.fragilisによる副鼻腔炎を発症させるが可能であると思われる。次に菌の定着性の問題であるが、今回は急性期のみの実験であり、果して一旦感染したB.fragilisが慢性的に定着するかどうかは明らかにし得ない。しかし菌注入後5日前後に剖検したものと、10日目に剖検したものとを比較した時、10日目のものの方が、B.fragilisが検出されなかったり、あるいは他の好気性菌との混合感染をみるものが多い傾向が窺われた。また3回注入群と5回以上注入群を比較すると3回注入の方が混合感染の比が高く、注入回数の多い方がB.fragilisのみの検出される例が多い。

これらの事を総合すると、B.fragilisのみで、副鼻腔に感染巣を作り得る。しかし、この感染巣は、この宿主をとりまく環境に存在する、他の好気性菌のその場での感染を誘発

させやすくしていると考えられる。注入回数が多く、注入後から観察までの期間の短いほどB.fragilisのみが検出される事が多いのは、B.fragilisの増殖が強く、他の菌の増殖を許さない状態のためと思える。しかし、これらの例も長い経過と共に好気的な菌と交代するとも考えられる。しかも1回の注入で好気性菌感染が起こる事、3回の注入で組織の変化が認められる事から考えて、B.fragilisの様な、常在性の嫌気性菌による感染は、常在菌ではない、他の感染力や毒性の強い好気性菌の副鼻腔での感染の場を提供し、それらの菌の消長に伴って、病巣に現われたり、消失したりするのであろうと考えられる。

一般に嫌気性菌感染の条件としては、局所組織の酸化還元電位の低下、酸素濃度の低下が重要である。松山らは、培養気管粘膜を用いた実験から、嫌気性菌の増殖は酸素濃度に依存しており、呼吸活性を有する動物細胞においては、細胞外から細胞内へ向けて下るPO<sub>2</sub>の勾配が形成され、この為に細胞表面近傍は低酸素分圧環境になっており、嫌気性菌は細胞表面に密着して増殖しているのだとして、一見好気的環境でも、嫌気性菌が定着、増殖しているのだとしている。それ故、正常副鼻腔でも嫌気性菌は常在してもよく、感染副鼻腔では局所のPO<sub>2</sub>は更に低下していると考えられ、こ

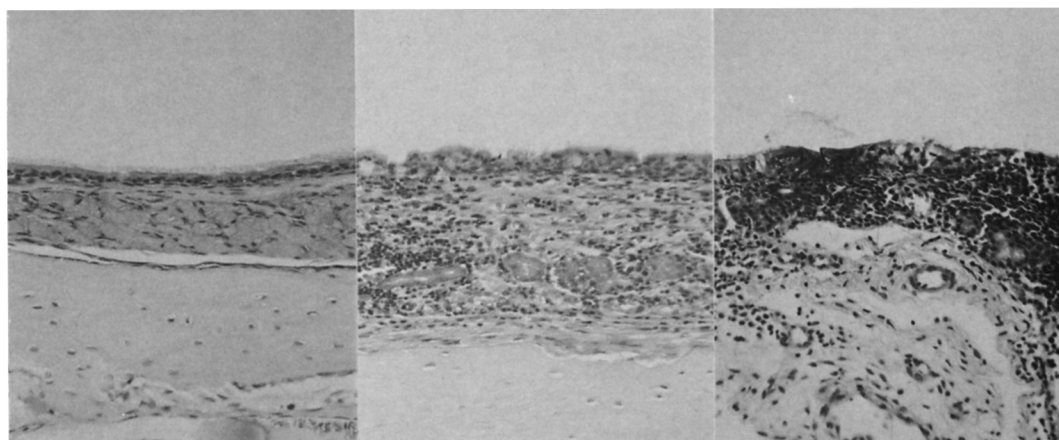
の様な環境で嫌気性菌が増殖するのは理にかなった事である。しかし実際は、前述の如く嫌気性菌の検出される頻度はまちまちで、単にそれだけでは、何故ある個体では嫌気性菌が繁殖し、別の個体では好気性菌が繁殖するのか、あるいは菌交代は何故おこるのか等の説明は困難である。この点に関しては、宿主側、細菌側の種々の要因が複雑に絡みあっているとと思われる。今回の実験では、菌交代、混合感染等の病態もみられ、嫌気性菌感染の環境条件を検索する上で、恰好の実験モデルと思われるので、今後更に検討を重ねてゆく予定である。

表 1

No	注射回数	別の種まで数	膿汁	好気培養			グラム染色性・形態
				嫌気培養 GAM寒天培地	ブレイクハートインフ ュージョン寒天培地	血液寒天培地	
1	1	6	右 左	- -	++ -	+	(+) 球菌
2	3	4	右 左	白色 白色	++ +++	++ ++	(+) 桿菌 (-) 桿菌
3	3	5	右 左	白色 白色	- -	++ ++	(-) 桿菌 (-) 桿菌
4	3	6	右 左	白色 白色	++ +++	- -	
5	3	10	右 左	- -	± -	± -	
6	5	4	右 左	黒褐色 黄白色	++ ++	- -	
7	5	5	右 左	黄白色 黄白色	+++ +++	- -	
8	5	5	右 左	黄白色 黄白色	+++ +++	+++ ++	(-) 桿菌 (-) 桿菌
9	5	5	右 左	黄褐色 黄褐色	+++ +++	- -	
10	5	10	右 左	黄白色 黄白色	± ++	+++ +	(-) 桿菌 (-) 桿菌
11	5	10	右 左	黄白色 黄白色	+++ +++	++ +	(-) 桿菌 (-) 桿菌
12	7	5	右 左	黄白色 白色	++ ++	- -	
対照	5	5	右 左	- -	- -	+ +	(+) 球菌 (+) 球菌

・コロニー数  
±…数個 +…数十個 ++…数百個 +++…数千個 ++++…無数

図 2 左：正常 中央：3回注入群 右：5回注入群



## 文 献

- 1) 馬場駿吉：慢性副鼻腔炎における嫌気性菌に関する臨床的ならびに実験的研究，名市大医誌，20：800～854，1970
- 2) 藤巻豊：副鼻腔炎の検出菌について，耳鼻と臨床，28：103～105，1980
- 3) Frederick J：Anaerobic infection of the paranasal sinuses，N.Engl J Med，290：135～137，1974
- 4) Karma P.：Bacteria in chronic maxillary sinusitis，Arch otolaryngol，105：386—390，1979
- 5) Brook I.：Bacteriologic feature of chronic sinusitis in children，JAMA，246：967～969，1981
- 6) Jawetz E.：Review of medical microbiology，11th Ed. (LANGE Medical pub)
- 7) 松山東平：表面寄生微生物—生体内微環境としての細胞表面をめぐる，生物科学，34：57～67，1982
- 8) 村上司：培養ウサギ気道粘膜での嫌気性菌 *Bacteroides fragilis* の感染実験，阪市医誌，29：829～837，1980

---

## 質 疑 応 答

**質問** 前山拓夫（鹿大）

- ① 私達も家兎を用いて実験的に副鼻腔炎を作製しているが，先生の実験では剖検時の洞粘膜の性状，特に自然口の状態は如何でしたか。
- ② 接種した菌の定着をよくする為に工夫されているか。

**応答** 愛場庸雅（大阪市大）

洞粘膜は肉眼的にも肥厚の認められる事が多かった。

菌の影響を純粋な形で見たかったので，菌定着の為の前処置等は特に行なわなかった。

**追加** 馬場駿吉（名市大）

以前に *Peptococcus* による実験的副鼻腔炎を発症させたことがありますが，先生の成績と同様，比較的浅層に病変がみられていました。