

ENDOTOXIN IN MAXILLARY SINUS EFFUSION FROM PATIENTS WITH CHRONIC SINUSITIS

Takeo Mitani, M.D. Nobuhiro Okazaki, M.D. Yoshiaki Okuno, M.D. Norio Maeda, M.D. Kunio Kuno, M.D. Thomas F. DeMaria, Ph.D.(*) Tadami Kumazawa, M.D.
Dept. of Otolaryngology, Kansai Medical University (*) Ohio State University, U.S.A.

Endotoxin are Lipopolysaccharide complexes present on the outersurface of most gram-negative bacteria. Endotoxin retains its potency after the death of the microbe and is released into the extracellular environment in an active form. Our earlier study indicated that Hemophilus influenzae is considered the most common pathogenic organism associate with chronic maxillary sinusitis. The present study was undertaken to determine the possible role of endotoxin levels in human maxillary sinus effusions from patients with chronic sinusitis.

The study group was composed of 48 patients, aged 8 to 56 years, who underwent maxillary sinus punctures because of maxillary sinus effusions. Maxillary sinus effusions were collected and cultured for aerobic and anaerobic bacteria. The limulus amebocyte lysate used for this study was obtained from a commercial source (Pyrosate). That supply of lysate had a sensitivity of 0.015ng/ml. Because of the limited volume of the effusions, aliquots were removed and initially diluted 1 to 9(vol/vol) with pyrogen-free saline so that each titration could be performed in duplicate. All the reagents used throughout the test procedure were pyrogen-free materials.

Twenty-one (44%) of the 48 maxillary-sinus effusions exhibited endotoxin activity, ranging from 0.15 ng/ml to 30,000 ng/ml. Endotoxin was present in 38% of the culture-negative effusions.

Bacterial material and a potent inducer of inflammation and modulator the immune response.

Endotoxin is capable of interaction with complements and components of the clotting system. Endotoxin has been shown to effect the of release of vaious vasoactive amines and other mediators of inflammation by direct interaction with macrophages, polymorphonuclear leucocytes, and other cell types. It can therefore be postulated that endotoxin is responsible for the persistence of the effusions even long after the gram-negative bacteria are no longer viable, if they are trapped in the maxillary sinus mucosa.

In summary, our data indicate that endotoxin is present in a high percentage of human maxillary sinus effusions, including those that are culture negative, and contributes to the pathogenesis of chronic sinusitis.

慢性副鼻腔炎患者における上顎洞内貯溜液中のendotoxin

関西医科大学耳鼻咽喉科 (*)オハイオ州立大学

三 谷 武 生・岡 崎 伸 博・奥 野 吉 昭・前 田 憲 男

久 野 久 仁 夫・DeMaria, T.F. (*) 熊 沢 忠 躬

はじめに

19世紀において、多くの細菌学者により病因論の研究が盛んに行なわれるようになった。ジフテリア菌等の培養濾液を動物に接種すると強い毒性が認められ、それぞれの菌に特有の症状が現われることがわかってきた。これら毒性物質は、外毒素(exotoxin)と名称され、その大略が明らかにされた。しかし、20世紀に入り、グラム陰性菌の培養濾液を動物に接種しても殆ど毒性を示さないことがわかった。1910年、Pfeifferは、これらの菌の毒性成分は菌体の中にあり、菌が生きている間は外部に拡散することはないが、一旦死滅崩壊すると菌体外に遊離するという仮説をたてこれを内毒素(endotoxin)と名付けた。現在ではその概念は異なるものの、エンドトキシンとして使われているその名の由来となっている。Pfeifferの仮説以来諸家により数多くの研究が繰り返され、現在では、エンドトキシンは細胞壁の最外層に存在し、その本態はLipopolysaccharide(LPS)であることがわかっている。また、免疫学的にも生物学的活性の非常に強い物質として、とりあげられている。

グラム陰性菌感染症または日和見感染症の増加により、これらの感染症によるエンドトキシン・ショックに対する関心が高まって来た。このことにもより、最近エンドトキシンが注目されることが多くなって来た。耳鼻咽喉科領域においても、近年、滲出性中耳炎の

発症機序に関与している可能性も注目され、いくつかの報告がなされている。また、エンドトキシンの副鼻腔炎に対する関与に関しては、岡崎が第21回鼻科学会シンポジウムで、家兎を用いて実験的にその関与を示唆した。我々はヒトにおける慢性副鼻腔炎にも同様にエンドトキシンが関与しているものと考え、まず、慢性副鼻腔炎患者の上顎洞内貯溜液における細菌学的検査について報告した。そこでさらに、慢性副鼻腔炎患者の上顎洞内貯溜液のエンドトキシンの検索を菌検査と併て施行してみた。

対 象

当科副鼻腔外来を受診した患者48名(♂:31名, ♀:17名)を対象とし、年齢は、8~56才であった。ただし、受診日より一ヶ月以前に抗生物質の投与をうけていない者を対象とした。

方 法

下鼻道側壁を4%キシロカインガーゼタンポンにて局所麻酔後、同部をイソジンで消毒した上で穿刺したシュミット探膿針より上顎洞内貯溜液を採取した。採取した検体を、エンドトキシンにつき定性試験(リムラステスト)及び、定量試験を施行した。^{2) 3) 4)}また、同検体を細菌学的検査についても行なった。

1. 定性試験(リムラステスト)

採取された上顎洞内貯溜液を、パイロジン・フリーの注射用蒸留水にて10倍希釈とし十分に振盪溶解した後、0.45 μ mのメンブランフイ

ルターにて濾過した。濾液の0.1mlを、エンドトキシン検出試薬であるパイロセート 0.1mlと試験管にて十分に混和し、37℃でインキュベートした。1時間後、試験管を180°転倒させた際、試験管底部にゲル形成しているものを、エンドトキシン陽性とした。定性試験にて陽性となった検体に対して、続いて定量試験を施行した。

2. 定量試験

定性試験の際、10倍希釈されたメンブランフィルター濾液を用いて、10倍希釈系列を作り、それぞれの希釈液についてリムラステストを行なった。次に、陽性となったその最大希釈液を用いて、さらに2倍希釈系列を作り、同様にリムラステストを行なった。2系列の最大希釈液における希釈倍数より、最大希釈倍数を求めた。それに、パイロセート試薬の感度(0.015ng/ml)を乗じて、エンドトキシン含量を得た。

3. 細菌学的検査

検体は、TCSポーターにすみやかに採取した。分離培地として、好気性菌には、チョコレート寒天培地、血液寒天培地、PEAアザイド寒天培地、マッコンキー寒天培地を用いた。嫌気性菌には、GAM寒天培地を用いた。

結 果

2. エンドトキシン検出陽性率

定性試験においてエンドトキシンの検出を行なった結果、48例中陽性例21例(43.8%)、陰性例27例(56.3%)であった。菌検査陰性群では、13例中5例(38.5%)にエンドトキシン陽性を認めた。

2. エンドトキシン含量

定量試験においてエンドトキシン含量を求めた結果、定量値は0.15-30000ng/mlに認められたが、主に6-300ng/mlに認められた(Fig. 1)。

3. 検出菌

細菌検査を施行した32例において検出菌陽性例19例(59.4%)を認めた。エンドトキシン陽性群では、14例中9例に菌陽性を認めた。内訳は、嫌気性菌が*Ps. micros*, *S. intermedius*各1株、好気性菌が*S. epidermidis* 6株、*H. aphrophilus* 1株であった。エンドトキシン陰性群では、18例中10例に菌が検出され、嫌気性菌が*S. intermedius* 1株、好気性菌が*P. stutzeri* 2株、*P. alcaligenes*, β . *streptococcus*各1株、*S. epidermidis* 5株であった(Fig. 2)。

Fig. 1

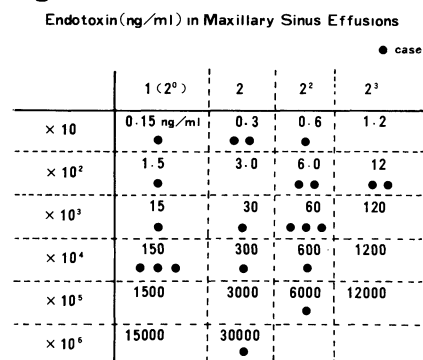


Fig. 2

Bacteriology and Endotoxin Activity

endotoxin	positive		negative	total	
	aerobes	anaerobes			
positive	<i>S. epidermidis</i>	6	<i>S. intermedius</i>	1	
	<i>H. aphrophilus</i>	1	<i>Ps. micros</i>	1	
		7		2	5
negative	β - <i>streptococcus</i>	1	<i>S. intermedius</i>	1	
	<i>P. stutzeri</i>	2			
	<i>P. alcaligenes</i>	1			
	<i>S. epidermidis</i>	5			
		9	1	8	18
TOTAL		16	3	13	32

(cases)

考 察

今回は、エンドトキシンをまず確実に検出できるかということの主眼に行なったため、症例も少なく、検出菌との関連についても詳しく検討していない。しかしながら、エンドトキシンが約44%に検出されたことは、やはり、慢性副鼻腔炎の発症機序に少なからず関与しているものと考えられる。定量値では、主に

6-300ng/mlに認められたものの、やはり全体にばらつきがあり、さらに症例数も少ないことから、その傾向、また、検出菌種との相関性、慢性副鼻腔炎の程度、病期との関連等についてまで検討するには至らなかった。菌検索については、その対象が少なかったこともあり、以前我々が報告した際、高率に認めたインフルエンザ菌が一株も認めなかったように、その内訳に差を認めた。このことは、エンドトキシンの検索を主としたため、今回はあえて、以前まで使用してきたジャンティンタップを使用しなかったことより、操作に差が出たことも起因したと考えられる。しかし、菌検出率では60%近くを認め、同程度の成績であった。

今後症例を増やすとともに、採取方法にも考慮を加え、検出菌とエンドトキシン及びその濃度との関係についても検討を加えていきたいと考える。

いずれにせよ、約44%にエンドトキシンの陽性を認めたことは、エンドトキシンが慢性副鼻腔炎の発生機序に大きく関与していることを示唆するものと考えられる。

結 語

1. 慢性副鼻腔炎患者の上顎洞内貯溜液よりエンドトキシンの約44%と高率に検出された。
2. 約6割に菌が検出されたが、エンドトキシンの検出との相関は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) Thomas F. DeMaria, et al. :
Experimental otitis media with effusion following middle ear inoculation of nonviable *H. influenzae*, *Ann. Otol Rhinol. Laryngol.*, Vol. 93, 52-56, 1984.
- 2) 玉熊正悦：エンドトキシンの測定法，エンドトキシンの基礎と臨床，Vol. 1，35-39，1979.
- 3) 丹羽允：リムラステストによる内毒素微量定量，臨床検査，Vol. 23, 343-348, 1979.
- 4) 石山賢，他：リムラステスト，救急医学，Vol. 3, 1589-1596, 1979.