

SCANNING ELECTRON MICROSCOPICAL OBSERVATION OF EXPERIMENTAL UPPER RESPIRATORY INFECTIONS ON NEBULIZATION OF HEMOLYTIC STREPTOCOCCI (REPORT 2)

Kaoru Soyano, Yoshito Mori, Kenji Suzuki, Junichiro Shimada, Mitsuaki Inagaki, and Shunkichi Baba.

Otorhinolaryngological Department, Nagoya City University School of Medicine.

Hemolytic Streptococci take the major rank being a pathogen of various suppurative diseases. In Report 1 a series of the experiments of infections on nebulization of hemolytic streptococci using rabbits was conducted, and the results of observations under the scanning electron microscope as to changes on individual nasal cavity, tonsil and trachea were reported. The authors in this study conducted another series of the experiments of infections with specimens collected from proprionasal cavity, tonsil and trachea with time after nebulization of steroid as a pre-treatment, observing them under the scanning electron microscope, the results of which are reported below.

As steroid 3 mg of betamethasone sodium phosphate (0.1%, 3ml) was nebulized for 10 minutes.

As hemolytic Streptococcus, Streptococcus pyogenes C-203, (Group A, Type-3, according to Lancefield's classification), was used, 20 ml (10^8 cfu/ml per rabbit) of which being sprayed for 1 hour.

Nasal Cavity : In the group sprayed with bacteria only (A Group) adhesion of bacteria was not observed by 24 hours, and disorder of cilia was noted

for 3 days.

Tonsil : Nearly the same findings were noted both in A and B groups. Changes of microplasma and adhesion of slime mycelia were observed as the individual difference rather than the timely difference.

Trachea : In A group adhesion of bacteria was partly observed up to 24 hours. Disorder of cilia too was noted slightly by the 3rd day, while in B group it was found on all the cases for 3 days and partly even by the 7th day.

With the amount of steroid inhaled in this study the effect on tonsil was hardly observed, but in proprionasal cavity and trachea, its effect specially on cilia was strongly noted. Meanwhile disorder of cilia remained in trachea longer than nasal cavity.

CONCLUSION

1) After inhalation of steroid a series of experiments for infection with hemolytic Streptococci by nebulization was conducted, and changes in proprionasal cavity, tonsil and trachea were studied with specimens collected with time under the scanning electron microscope, and compared with those in the group sprayed with hemo-

lytic bacteria only.

- 2) Referring to proprionasal cavity and trachea, prolonged adhsion of bacteria and the effect on cilia were noted to be higher and longer in the group with steroid inhalation.

- 3) As to tonsil adhesion of bacteria was centered around crypts. In this series of experiments there was no difference noted between the groups with and without steroid nebulization

噴霧吸入による実験的上気道溶連菌感染の走査電顕的観察

—第2報—

名古屋市立大学耳鼻咽喉科学教室

征矢野 薫・森 慶人・小山 賢吾・鈴木 賢二
島田 純一郎・稲垣 光昭・馬場 駿吉

はじめに

溶連菌は多彩な化膿性疾患の起炎菌として主要な位置をしめている。耳鼻咽喉科領域においても扁桃炎、咽頭炎などの上気道感染症をはじめとして各種の化膿性疾患において検出されている。第1報にて溶連菌の家兎に対する噴霧感染実験を行い、固有鼻腔、扁桃、気管の変化について走査電子顕微鏡にて観察し報告した。今回我々は前処置としてステロイドの噴霧吸入の後、溶連菌の噴霧感染実験を行い、固有鼻腔、扁桃、気管について経時的に標本を採取し走査電顕にて観察し検討した。

方 法

1) 実験動物

12週～16週、体重2.4kg～2.8kg日本白色種家兎を用いた。購入後2週間飼育し鼻汁、下痢などない事を確認し実験に供した。

2) 使用薬剤

ステロイドとしてリン酸ベタメタゾンナトリウム(塩野義製薬製)3mg(0.1%, 3ml)

を10分間にて噴霧吸入した。

3) 使用菌種

溶連菌にはLancefield分類によるA群3型菌である *Streptococcus pyogenes* C-203(中外製薬 新薬研究所より分与)を用いた。animal passageを3回(LD₅₀=5×10⁶ cfu / mouse)した後Todd Hewitt broth 37℃ 8時間培養家兎1羽当り10⁸cfu / ml 20mlを1時間かけて噴霧した。

4) 噴霧方法

噴霧感染装置は密封透明プラスチック容器に噴霧孔排気孔を作成し噴霧した。排気は10%ホルマリンを3回通過させ菌を除去した。

5) 標本採取方法

ネブタール静脈麻酔下頸動脈切断し失血死させ固有鼻腔より甲介骨と共に鼻粘膜採取、扁桃は周囲咽頭粘膜と共に扁桃に傷をつけないように1塊に採取、気管粘膜は気管軟骨と共に採取した。

6) 標本作製方法

洗浄瓶による生食ジェット流を用い十分洗浄を行い、2.5%グルタルアルデハイド24時間固定しエタノール脱水、酢酸アミル置換、臨界点乾燥、試料台に固定し白金パラジウム蒸着後日立走査電子顕微鏡S-507型にて観察した。

7) 検討方法

菌噴霧のみをA群、隔日に5回ステロイド噴霧後翌日菌噴霧をB群、隔日5回ステロイド噴霧のみをC群とし各群について2時間、24時間、3日、7日経過後標本採取した。

結 果

1) 固有鼻腔

B群3日目の所見は、A群では同時期には認められなかった線毛の乱れ、消失、融合を認め生食にて十分洗浄したにもかかわらず、粘糸の付着も認めた。(Fig. 1)

C群の同時期では線毛の軽度の乱れを認めるのみであった。(Fig. 2)

B群7日目では一部線毛の変化を認めるがほぼ正常に近い状態になった。

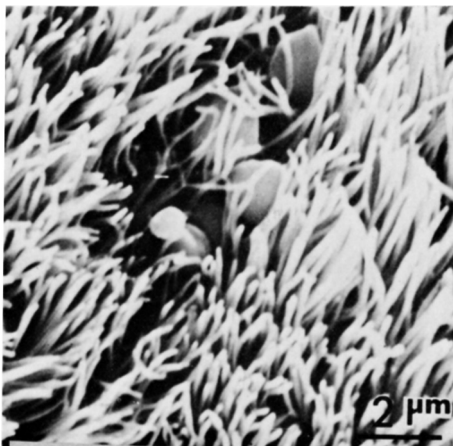


Fig. 1

2) 扁桃

B群24時間では陰窩小孔と思われる部位に、菌の付着を認めた。又その周囲には遊走細胞片と思われる集塊が見られた。

(Fig. 3)

A群においても3日目迄菌の着を認めたがB群でも同様の所見が得られ菌の付着時間に両群差を認めなかった。

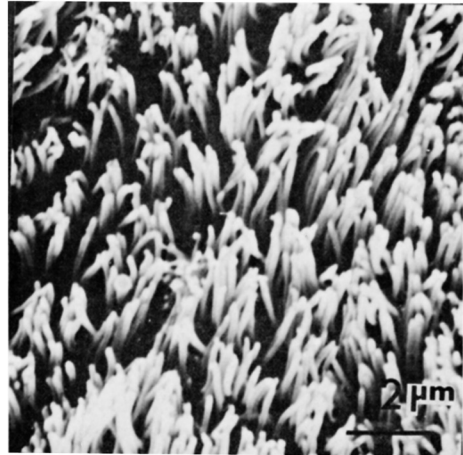


Fig. 2

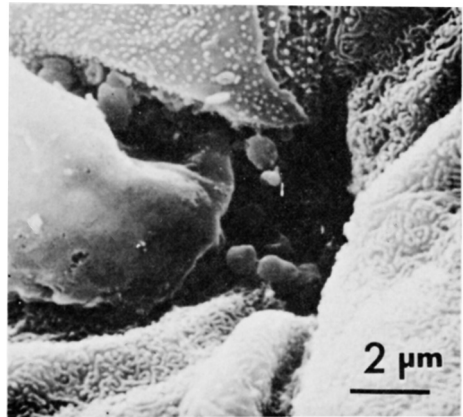


Fig. 3

3) 気管

A群においては気管の菌の付着は24時間経過すると殆ど認めず、線毛の脱落なども3日目にはほぼ正常となっていたものがステロイド処理し菌を噴霧すると3日目にも菌付着及び線毛の脱落、粘糸の付着を認めた。この変化は7日目においても一部の実兎に認めた。同期のC群の気管では線毛に軽度な配列の乱れを認めた。これは鼻腔と

ほぼ同様の所見であった。

B群7日目にもまだ線毛の乱れを認め鼻腔と比較して線毛の乱れが長期間生じる様に思われた。

4) 小括

今回使用したステロイド吸入量では溶連菌の各部位に対する影響を扁桃では殆ど認めず、固有鼻腔、気管の両部位に対しては障害が強いようだった。また鼻腔より気管に長期に渡って線毛の障害が残るようであった。

考 察

耳鼻咽喉科領域ではネブライザー療法は今日ひろく一般に行われている治療法であり、鼻疾患に対するネブライザーではステロイドは抗生物質につき使用頻度の高い薬剤である¹⁾。

ステロイドは抗炎症作用、抗アレルギー作用を有し、その有用性については疑うべくもないが、その反面副作用についても忘れてはならないことである、特に長期連用や高濃度の使用には注意が必要である。

今回の実験に用いたステロイド量は体重当り一般使用量の600倍という高濃度であるが、そのみでは各組織に走査電顕的には障害を認めなかった。そこでステロイド処理後溶連菌の噴霧を行い固有鼻腔、扁桃、気管に対する防御能の変化について検討してみた。

鼻粘膜に対する薬剤の影響については数多くの報告がある。齊藤らによると各種薬剤によって線毛運動障害が生じたそれらにはdose responseがあると報告している。電顕的にも線毛の障害について大野は臨床的及び実験的に検討し報告している、他にも薬剤の併用による気管粘膜への影響について三吉ら⁴⁾は抗生物質にステロイドを併用することにより粘膜からの吸収が促進されたと報告している。

ステロイドは嗅覚障害、アレルギー性鼻炎など近年益々使用されるようになっており全身的副作用については、福島⁵⁾、梅田ら⁶⁾の報告

にある副腎機能低下をはじめ数多くの検討がなされているが、局所的な作用についてはあまり述べられない。近年他のステロイドと比較して600倍の局所作用を有するとされるBeclomethasonの開発により、あらためてステロイドの局所作用について検討がされている⁷⁾。これらの報告によると一般的な使用量においてステロイドの副作用を述べているのはMilne⁸⁾による真菌の発生などごく少数の報告があるだけであり、一般的な使用にあたっては副作用の心配はないと思われる。

当教室小山⁹⁾の報告によると、鼻腔に対するステロイドの影響は0.4mg4週の鼻腔への点鼻で対照と比較して感染率が高くなることが示されている。今回の実験に使用したステロイド噴霧量は一般的使用量をはるかに越えた量ではあるが、前述したようにそれ単独では気道への影響は少なく2時間で分泌物をやや多く認めるだけで肉眼的にも、走査電顕的にも感染を生じた所見はえられなかった。

ステロイド噴霧のみでは、初期において分泌物の付着を軽度認めるだけだったが更に菌の噴霧を行うと、菌のみの噴霧と比較して菌の付着時間の延長が起こり線毛の脱落、融合などの変化も長期に渡っており、なんらかの形で組織の防御能の低下を起していると思われた。扁桃においては両群に差がなくステロイドの作用は線毛を有する部位への影響が大きいと予想される。

粘液の物理学的性状の変化は粘液線毛機能に影響を及ぼすことの報告がある¹⁰⁾、今回のステロイド処理が粘性性状を変化させたことだけによるものか、あるいは他への影響によって生じたのかは今後の検討が必要であろう。

ステロイドの噴霧による組織への作用はその濃度及び投与期間等により異なると思われるが今後これらステロイドの作用について更に検討を重ねて行きたいと思う。

ま と め

- 1) ステロイド吸入後溶連菌の噴霧感染実験を行い、固有鼻腔、扁桃、気管の各部位において経時的に走査電子顕微鏡にて観察し、溶連菌のみ噴霧群との比較を行った。
- 2) 固有鼻腔、気管ではステロイド吸入群が菌の付着の延長、線毛に対する影響も高度かつ長期に渡っていた。
- 3) 扁桃においては、菌の付着は陰窩小孔付近に付着した、今回の実験においてはステロイド噴霧群、非噴霧群の間に差を認めなかった。

参 考 文 献

- 1) 大山 勝：局所処置と鼻粘膜の病態生理，耳鼻と臨床，26：754-760，1980
- 2) 斉藤 等：鼻粘膜およびその上下層にたいするエアロゾルの作用，耳鼻と臨床，25：599-604，1979
- 3) 大野郁夫：局所薬物療法の鼻粘膜上皮細胞におよぼす影響に関する走査電顕的研究，耳鼻，29：909-928，1983
- 4) 三吉康郎，大山 勝，野の山 純：気管線毛上皮の薬物吸収に関する実験的研究，耳鼻臨床，65：9，1119-1130，1972
- 5) 福島淑子：嗅覚障害の治療法—特に副腎皮質ホルモン点鼻療法に関する臨床的研究，日耳鼻，81：36-44，1978
- 6) 梅田博道，斉藤 隆，竹内直文：副腎皮質ホルモン吸入療法の検討，日胸，26：670-674，1967
- 7) 星野知之：有毒性および薬用エアロゾルによる気道粘膜の変化，耳鼻と臨床，25：4，545-554，1979
- 8) Milne L. JR, et al : Beclomethasone dipr opriate and oropharyngeal candidiasis, Brit. Med. J, 3 : 797 - 798 : 1974
- 9) Kengo Koyama, et al : Morphological Changes in nasal mucosa induced by administ ration of β -methasone nasal drops, J. Clin. Electron Microscopy, 18 : 5 -6, 1985