

THE STUDY OF EXPERIMENTAL TONSILLITIS INDUCED BY *STREPTOCOCCUS PYOGENES* IN RABBITS

Keiko Terashima, Mayumi Morisaki, Shogo Sameshima and Soichi Nukuzuma.

(Senju Pharmaceutical Co., Ltd, Itami)

Shunkichi Baba

(Department of Otolaryngology, Nagoya City University Medical School, Nagoya.)

Tonsillitis was experimentally induced in rabbits by the inoculation of *Streptococcus pyogenes* ($50 \mu\text{l}, 10^{10}$ CFU/ml) 4 times into palatine tonsil. 24 hours after the first inoculation, the palatine tonsils were examined by macroscopy and light microscopy.

Results were as follows:

1. Macroscopic findings of tonsil were lacunar debris and swelling.
2. *S. pyogenes* were found in the lacunar debris.
3. Microscopic findings of the crypt epithelium were neutrophilic infiltration and desquamation. Nonconspicuous lymphoid follicles, neutrophilic infiltration, hemorrhage were found in subepithelium.
4. After the inoculation the number of leukocyte in blood was increased significantly.

*S. pyogenes*による家兎急性扁桃炎モデルの作製

寺嶋 啓子 守先 真由美 鮫島 昭悟 奴久妻 聡一

千寿製薬 伊丹研究所

馬場 駿吉

名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科教室

はじめに

*Streptococcus pyogenes*は、ヒト急性扁桃炎の主要な起炎菌である¹⁾。しかしながら、扁桃は感染臓器と免疫臓器の二面性を持っているため正常の免疫反応が行われている実験動物では、感染の成立は難しい。今回我々は、易感染状態の家兎の口蓋扁桃陰窩に*S. pyogenes*を滴下することにより扁桃炎モデルの作製を試みたので報告する。

材料および方法

1. 使用菌株

東京総合臨床検査センターの出口氏より分与された*S. pyogenes*ヒト扁桃炎由来臨床分離株を、Todd培地にて22°Cで48時間培養、遠心分離後、新たなTodd培地に 10^{10} CFU/mlになるよう懸濁調製した。

2. 使用動物

体重約1.8kgの雄性白色家兎10匹を、菌接

種前3日間、絶食絶水で飼育し使用した。

3. 扁桃炎発症方法

白血球数測定のため、家兎の耳静脈より血液2 mlを採取した。次いで家兎に1%硫酸アトロピン1 mlを皮下投与した。1時間後に家兎の散瞳を確認した後、1%硫酸アトロピン1 mlの皮下投与、動物用ケタラール[®]50（三共社製）およびドロレプタン[®]（三共社製）の筋肉内投与を行った。次いで、家兎を左側口蓋扁桃が下になるように横臥姿勢に保持し、内視鏡（オリンパス光学社製）を口腔より挿入した。内視鏡下、ポリエチレン製チューブ（ハナコメディカル社製）を用いて左側口蓋扁桃陰窩に前述の菌液50 μ lを滴下した。その1, 2, 4時間後にも同様の操作を行ない菌を滴下した。

4. 扁桃炎観察方法

1) 血液中の白血球数の測定方法

菌接種24時間後に耳静脈より血液2 mlを採取し、常法に従い白血球数を計測した。

2) 内視鏡による観察方法

初回菌接種の24時間後に、硫酸アトロピン、全身麻酔薬の投与を行った後、前述の内視鏡を用いて実施した。

3) 陰窩内容物菌検査方法

陰窩内容物を滅菌綿棒にて採取し、Azide（Difco社）およびTodd（Difco社）培地に画線塗抹した（22°Cにて48時間培養）。

4) 病理組織学的検討

家兎の耳静脈より、致死量のペントバルビタールNaを静脈内投与した後、気管切開を行い扁桃を周囲の組織を含めて摘出した。常法に従ってパラフィンブロックを作製し、15 μ mごとに3 μ m厚さの切片を作製し、HE染色、マッカラム・グッドパスターのグラム染色を行った。

実験結果

1. 白血球数の測定

菌接種直前の白血球数の10匹の平均値は、 $4452 \pm 695 / \text{mm}^3$ であったが、菌接種24時間後には $7864 \pm 1239 / \text{mm}^3$ となり、有意に増加していた。

2. 内視鏡による観察

菌接種24時間後の観察では、ほぼ全例に、扁桃の腫脹と膿栓が認められた。

3. 陰窩内容物の菌検査

10例全例の扁桃陰窩より*S.pyogenes*が検出された。

4. 病理組織学的観察結果

HE染色での扁桃組織の観察では、陰窩上皮には、剥離脱落、好中球の浸潤が、実質には、好中球の浸潤、出血が認められた。リンパ濾胞は不鮮明であった（Fig1, 2）。なお、実験を行った10例について、これらの所見ごとにその程度を、（-）から（卅）までの4段階に分け評価したところ、個体により程度

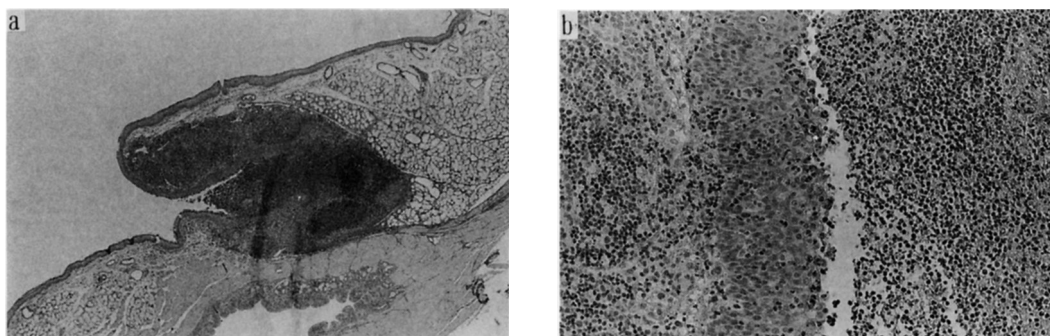


Fig. 1 Neutrophilic infiltration to the crypt, crypt epithelium, subepithelial lymphoid tissue (HE stain. a: $\times 4$, b: $\times 40$).

の差はあるものの、出血を除く項目は全例で認められた (Fig 3) . またマッカラム・グッドバスターのグラム染色を行ったところ、

陰窩内容物、陰窩上皮、上皮下実質にグラム陽性の連鎖状球菌像が認められた (Fig 4).

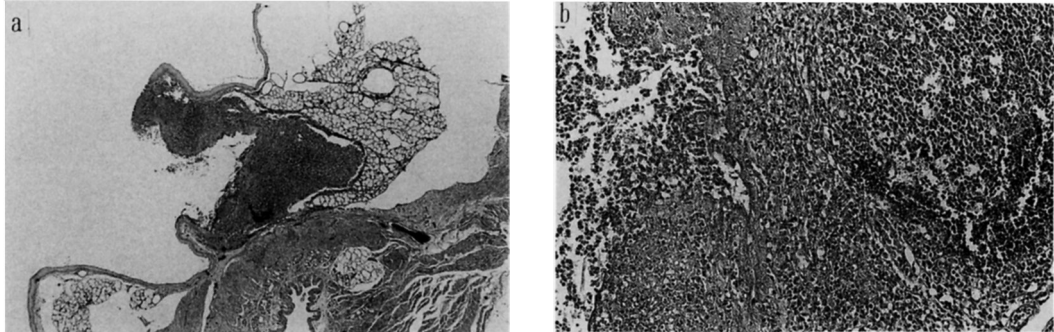


Fig. 2 Neutrophilic infiltration to the crypt epithelium, desquamation of epithelium, hemorrhage and nonconspicuous lymphoid follicles (HE stain. a:×5, b:×40)

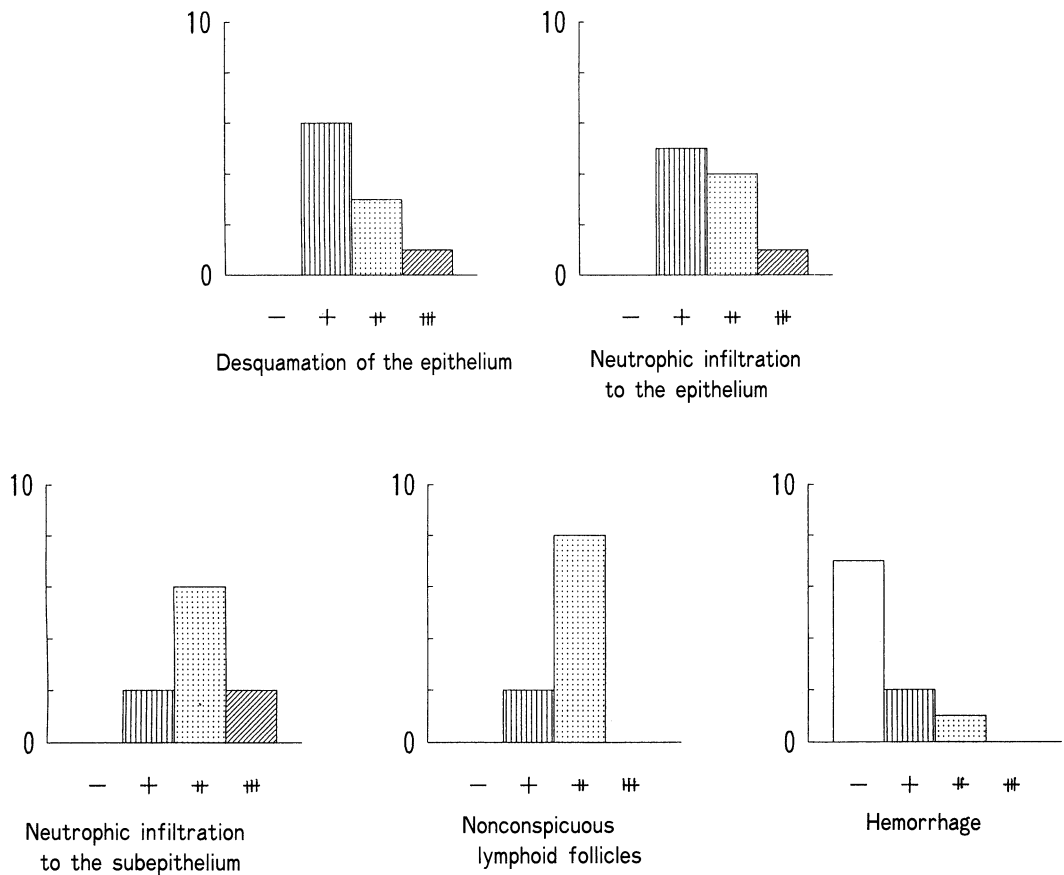


Fig 3 Number of case

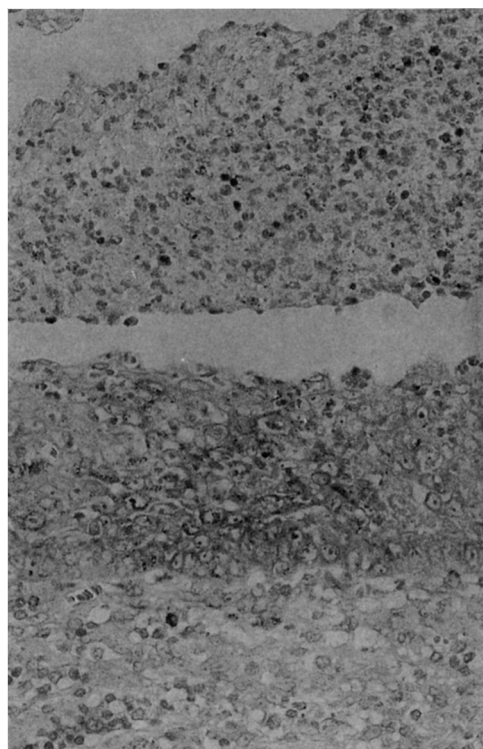


Fig 4 Gram positive bacteria within the lacunar debris, crypt epithelium and subepithelial lymphoid tissue (Gram's stain. ×40)

考 察

今回、*S.pyogenes*の臨床分離株を用い家兎急性扁桃炎モデルを作製を試みた。しかしながら、家兎の口蓋扁桃は1次陰窩のみの単純構造で、菌の上皮細胞への付着性が悪く、また、正常の免疫反応が行われている場合には、感染の成立は難しいと考えられた。そこで本実験では、菌の付着性を高めるために、唾液分泌抑制作用を有する硫酸アトロピンを投与し、菌の接種は4回とした。また、ストレスを負荷し家兎の免疫能を低下させるため、菌接種直前の3日間は絶食、絶水状態で飼育した。

その結果、菌接種24時間後の内視鏡観察では、扁桃に腫脹、膿栓が認められた。発赤も

認められたが、観察時に投与した全身麻酔とアトロピンの影響が懸念されるので評価からは除去した。陰窩内容物からは、*S.pyogenes*が検出された。また、陰窩内容物、陰窩上皮、上皮下実質にはグラム陽性の連鎖状球菌像が観察された。扁桃炎所見としては、陰窩上皮には剥離脱落、好中球の浸潤が、実質には、好中球の浸潤、出血、リンパ濾胞の不鮮明化が認められ、ヒトの急性扁桃炎と類似所見を呈していた²⁾。

以上の結果より、易感染状態の家兎口蓋扁桃陰窩に*S.pyogenes*を繰り返し接種することにより、急性扁桃炎モデルを作製し得たと考えられた。しかしながら本実験は、扁桃観察は菌接種24時間後までしか行っていないこと、菌の確認をグラム染色で行っていること等、今後の課題も多い。今後は上記の点に留意し実験を進めるとともに、本モデルを用いて薬効評価を行っていく予定である。

ま と め

1. 内視鏡観察では、腫脹、膿栓が認められた。
2. 陰窩内容物より*S.pyogenes*が検出された。また、陰窩上皮、実質には、同菌と考えられるグラム陽性の連鎖状球菌像が認められた。
3. 病理組織学的観察では、陰窩上皮に剥離脱落、細胞浸潤が、実質に細胞浸潤、リンパ濾胞の不鮮明化、出血が認められた。
4. 菌接種後、白血球数は有意に増加した。

参 考 文 献

- 1) 出口浩一：陰窩性扁桃炎患者からの検出菌と第一次選択剤に関する検討，日扁桃誌 29：192-196，1990
- 2) 菊池恭三：急性扁桃炎，耳喉 57：783-786，1985。

質 疑 応 答

質問 榎葉周三 (奈良医大細菌学)

*S.pyogenes*のCFUについて、連鎖を切る為にトリプシン処理を行ってますか。

応答 寺嶋啓子 (千寿製薬(株) 伊丹研究所)

液体希釈法により求めた菌数が、トリプシン処理を行い求めた菌数と同等であることをあらかじめ確認した。

本実験における菌数計測は、液体希釈法により求めた。