

PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF LEUKOCYTES ON A LAYER OF ERYTHROMYCIN-TREATED *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Tsuneya Nakajima¹⁾, Yoshinori Tomiya¹⁾, Kensaku Kaneda¹⁾, Hikoyoshi Kaito¹⁾
Kyoko Kunikawa²⁾, Kuniko Watanabe²⁾, Kazunori Ono²⁾, Mitsuhiro Yokozawa²⁾
Yoshio Honda³⁾

1) Department of Otorhinolaryngology, Tokyo Kyosai Hospital

2) Department of Microbiology, Tokyo Kyosai Hospital

3) Department of Otorhinolaryngology, The Jikei University School of Medicine

At the present time, erythromycin (EM) has been used for the treatment of various chronic infections, including diffuse panbronchiolitis and such otorhinological infections as nasal sinusitis, and its clinical efficacy has been extensively investigated. However, the mechanism of action of this drug has remained unclear for a large part.

With this in mind, this experiment was carried out to investigate the effect of E

M on pathogens through the observation of phagocytic activity of leukocytes on EM-treated *P.aeruginosa*. Although slightly larger plaques were formed on the layer of EM-treated *P.aeruginosa* due to the phagocytic activity of leukocytes than those seen on the layer of EM-untreated *P.aeruginosa*, the findings of the present experiment provided no further information needed to clear up the point at issue.

エリスロマイシン (EM) 処理細菌に対する 白血球貪食能の変化について

— プラーク法による白血球貪食機能検査の応用 —

中島 庸也 富谷 義憲 金田 健作 皆藤 彦義

東京共済病院耳鼻咽喉科

国川 恭子 渡辺 邦子 小野 一徳 横澤 光輝

東京共済病院検査科微生物

本多 芳男

東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科学教室

はじめに

最近、慢性呼吸器感染症に対しエリスロマイシン（以下、EMと略す）の少量長期投与が有効であるとの報告がされている¹⁻³⁾。耳鼻科領域においても慢性副鼻腔炎などの慢性感染症に対して同化学療法の有効性について検討され始めている。EM投与による臨床効果の発現機序については、本来感受性が低い緑膿菌に対する効果と宿主側に対する効果について研究が進んでおり、EMの菌側への作用としてelastase⁴⁾、protease、slime⁵⁾、pili⁶⁾等の菌体産生物質の抑制、または、ヒト血清感受性の亢進⁷⁾、及び好中球の殺菌系に対する菌の感受性を高めているのではないかと考えられている⁸⁾。一方、抗菌作用以外には生体免疫機能の賦活作用⁹⁾が考えられているが、まだ不明瞭な点が多々ある。

今回、我々はプラスチックシャーレを用いたプラーク法による白血球貪食機能検査方法¹⁰⁾を応用して、EM処理した細菌に対する白血球貪食能を調べ、EMの菌側に対する効果を検討したので、ここに報告する。

る白血球貪食機能検査を施行した。菌浮遊液は緑膿菌を 1×10^9 CFU/mlに調整した。

2) 白血球貪食能の観察

プラーク法による白血球貪食機能検査

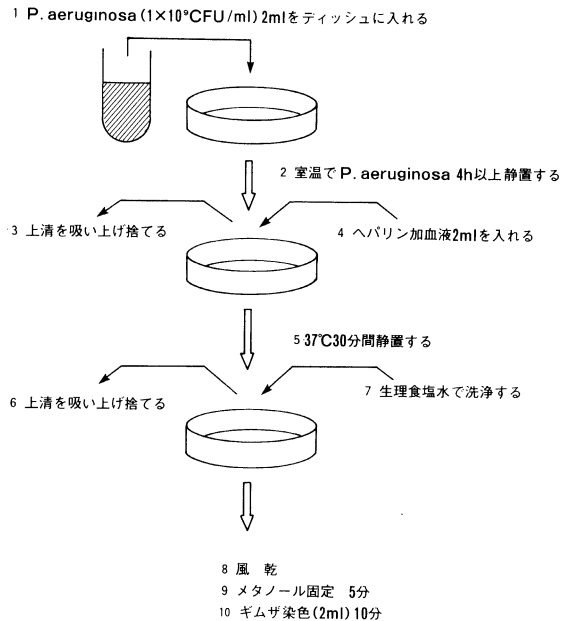


Fig 2

EM処理細菌の作製

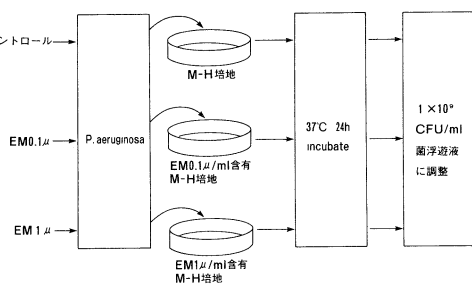


Fig 1

材料及び方法

1) EM 処理細菌の作製

臨床分離株の緑膿菌を使用し、EM 0.1, 1 μg/mlを含有するミュラーヒントン(M-H)培地にて24時間、37°Cにて培養した。これらの菌にて以下のプラーク法によ

- ① 緑膿菌浮遊液 (1×10^9 CFU/ml) 2 ml をプラスチックシャーレ（デンマーク・ヌンク社製、直径60mm）にいれる。
- ② 室温で4時間以上静置する。
- ③ 上清をパスツールピペットで吸い上げる。
- ④ ヘパリン加血液 2 ml を入れる。
- ⑤ 37°C30分間培養する。
- ⑥ 上清をパスツールピペットで吸い上げる。
- ⑦ 生理食塩水で洗浄する。
- ⑧ 風乾
- ⑨ メタノール固定 5分
- ⑩ ギムザ染色 (2 ml) 10分

結 果

コントロール (Fig 3) : 菌の濃度 : やや薄い
 プラーク : (±)

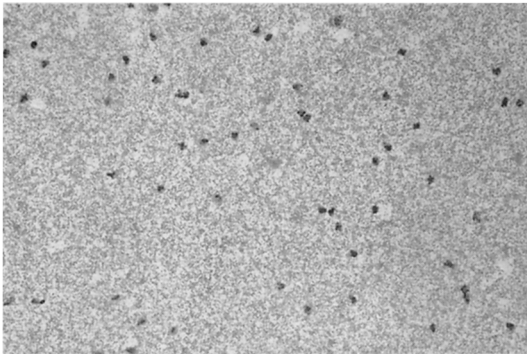
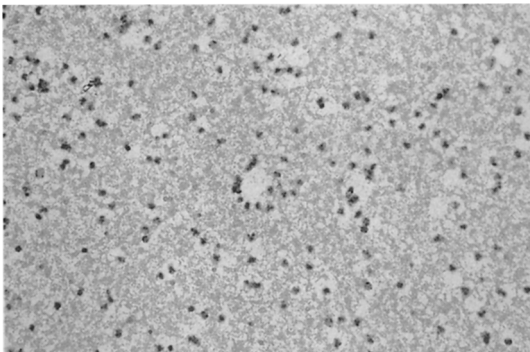
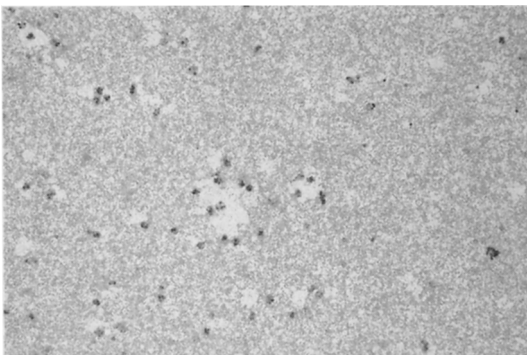


Fig 3 Control

EM 0.1 μg (Fig 4) : 菌の濃度 : 薄い
プラーク : (+)

Fig 4 EM 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$

EM 1 μg (Fig 5) : 菌の濃度 : やや薄い
プラーク : (+)

Fig 5 EM 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$

コントロールに比べ EM 処理菌のプラークはやや増大する傾向を認めた。しかし、逆に、コントロールよりシャーレ内菌濃度がやや薄くなる傾向も認められた。

考 察

現在、びまん性汎細気管支炎 (DPB) に対して臨床的に始められた EM 投与を、やはり、同じ臨床的見解により耳鼻咽喉科領域でも投与され始めている。しかし EM 投与による効果の発現機序については推察の域を出ていない。そこで、今回の実験は、この治療法が菌側に作用するのか、生体である宿主に作用するのかを探る基礎研究として、まず、菌側に作用すると仮定して行った。

菌側への影響として sub-MIC にて elastase⁴⁾, protease⁵⁾の産生抑制, slime⁵⁾, pili産生の抑制⁶⁾, 血清感受性の増加⁷⁾, 好中球内の酸素依存性殺菌系に対する感受性の増加⁸⁾などの報告があり、これらにより緑膿菌の付着性の低下、病原性の減弱がおきると考えられている。

本実験においても菌の付着性の変化は非常に重要であった。実験の最初に菌を 4 時間以上静置するが、この操作で菌がシャーレの底に非特異的な付着をすと考えられるが、EM 処理により前述の報告で推察された付着性の低下がシャーレ内でもおきるとすれば、今回観察されたコントロールに比べ EM 処理菌のシャーレ内の菌濃度が調整をしたにもかかわらず低下する現象は理解できるものである。しかし、このコントロールと EM 処理のシャーレ内の菌の濃度差のために、結局、白血球貪食能の正確な比較が不可能となった。ただし、印象として貪食能は、EM 処理にて亢進するのではないかと思われた。

いずれにしる現段階ではまだデータのばらつきが多く結論を出すまでにはいたらなかった。

参 考 文 献

- 1) 澤木政好, 他: 慢性下気道感染症における Erythromycin 長期化学療法の検討
—第1報: Amoxicillin との対比— 感染症誌, 60: 37~43, 1986.
- 2) 澤木政好, 他: 慢性下気道感染症における Erythromycin 長期化学療法の検討
—第2報: Pseudomonas 感染例も含めて— 感染症誌, 60: 45~50, 1986.
- 3) 工藤翔二, 他; びまん性汎細気管支炎にたいするエリスロマイシン 少量長期投与の臨床効果に関する研究 —4年間の治療成績 日胸疾会誌, 25: 632~642, 1987.
- 4) 増谷喬之, 他: Erythromycin による Pseudomonas aeruginosa の Elastase 産生能抑制作用について 感染症誌, 63: 1212~1214, 1989.
- 5) 横井山繁: ムコイド型緑膿菌に対するマクロライド系薬剤の作用 感染症誌, 64: 1439~1446, 1990.
- 6) 山崎 透: 緑膿菌の気道粘膜付着能とそれに及ぼす抗菌剤の影響 感染症学誌, 64: 575~583, 1990.
- 7) 館田一博, 他: エリスロマイシン処理による緑膿菌のヒト血清感受性の変化 感染症誌, 65 臨時増刊: 123, 1991.
- 8) 門田淳一, 他: 難治性下気道感染症におけるエリスロマイシンの好中球機能に及ぼす影響 —緑膿菌への作用と気管支肺胞洗浄液の検討— 感染症誌, 65: 277~284, 1991.
- 9) 片平潤一, 他: エリスロマイシンのインターロイキン-1, 腫瘍壊死因子産生刺激作用 第1報 In vivo での作用 Chemotherapy, 39: 320~328, 1991.
- 10) Seki K, et al: A simple method for observation of phagocytosis on bacterial thin-layer. Microbiol Immunol 33: 81~85, 1989.

質 疑 応 答

質問 坂倉康夫 (三重大)

- ① EM の作用機序の解明を細菌側からアプローチする場合, 培養陰性症例に対する効果はどのように説明するか.
- ② EM の投与はなぜ少量でなければならないのか. 副作用以外に何か根拠はあるのか.

応答 中島庸也 (東京共済病院)

- ① 今回の検討は, 菌側への効果を観察したもので, 実際の臨床効果を考える場合は, 宿主側への効果を考慮した方が良いと考えます.
- ② 現在のところ, その点についての解答は持っておりません.