

A STUDY OF EXPERIMENTAL SINUSITIS INDUCED BY KILLED *HEAMOPHILUS INFLUENZAE* TYPE B IN RABBITS.

Shirou Yamamoto, Kounosuke Wakuda, Masao Matusmoto and Keiji Kanamori

Department of Otorhinolaryngology, Nara Prefectural Hospital

Takashi Matsunaga

Department of Otorhinolaryngology, Nara Medical University

Shyuzou Kashiba

Department of Bacteriology Nara Medical University

We made experimental sinusitis of rabbits infused by injecting killed *H.influenzae* type B in the paranasal sinuses, following general and local sensitization with egg albumin.

Mucosa of paranasal sinuses were observed with a scanning electron microscope.

The results were as follows:

1) Cells killed with alcohol that contained a small quantity of capsular material

caused only slight sloughing off cilia in the paranasal sinus.

2) Cells killed with thimerosal that contained a large quantity of capsular material caused invariably sloughing off cilia in the paranasal sinus.

We therefore conclude that it is the capsular material which causes sloughing off cilia in rabbit infused with killed *H.influenzae* type B.

Haemophilus influenzae Type B 死菌による 実験的副鼻腔炎モデルの検討

山本 史郎 和久田 幸之助 松本 雅央 金森 敬司

奈良県立奈良病院耳鼻咽喉科

松 永 喬

奈良医科大学耳鼻咽喉科学教室

檜 葉 周 三

奈良医科大学細菌学教室

はじめに

Haemophilus influenzae type B 死菌をもちて、家兎副鼻腔炎モデルが作成できることは、我々¹⁾がすでに報告している。その中で、死菌においても十分にトキシンのもつ組織、細胞障害性があると考えられているが、死菌のどの部分が、またどの様な成分が、その様な組織、細胞障害性を有しているのかは未解決の問題である。

我々は、*H. influenzae* type B の莢膜がこの組織、細胞障害性を有していると考え、前山²⁾の方法に準じ、家兎に卵白アルブミンで全身および局所感作したのち、*H. influenzae* type B のアルコール死菌とマーズニン（チメロサル）死菌を副鼻腔に局所投与し、その粘膜を組織学的に検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

成熟白色家兎 8羽を用い、2.5%卵白アルブミンを1回1ml、週4回連続して家兎の背部に皮下注し、アルサス現象陽性となったものに対して、同一抗原を、両側副鼻腔内に1回1ml、週3回、2週連続投与した。

この全身および局所の感作後、ヒト気道より分離、培養した *H. influenzae* type B を70%アルコールで処理したものをアルコール死菌とし、0.1%マーズニンで処理したものをマーズニン死菌とし、アルコール死菌、マーズニン死菌をそれぞれ家兎4羽ずつに対して、両側副鼻腔に1回50mgを3日間隔で2回投与した。

その後アルコール死菌で2羽、マーズニン死菌で2羽ずつを2週後と4週後に、ネンブタール静脈麻酔下に屠殺解剖し、両側副鼻腔粘膜を採取し、組織学的検討を光顕および走査電顕を用いて行った (Fig 1)。

研究結果

光顕的観察結果は、8羽16側の副鼻腔粘膜すべてにPAS染色で陽性顆粒を腺組織に認

め、分泌能の亢進を示し (Fig 2)、アルコール死菌投与群、マーズニン死菌投与群内での2週後と4週後屠殺群の比較では著明な差は認められなかった。

また、アルコール死菌投与群とマーズニン死菌投与群との比較でも、著明な差は認められなかった。

2.5%卵白アルブミン液

(背部皮下注
1回1ml 週4回
2週連続投与)

アルサス現象陽性

2.5%卵白アルブミン液

(両側副鼻腔内穿刺注入
1回1ml 週3回
2週連続投与)

アルコール死菌 マーズニン死菌
(両側副鼻腔内穿刺注入
50mg 3日間隔で2回投与)

2週後および4週後に組織採取施行

Fig 1 死菌を用いた実験的副鼻腔炎の作製法

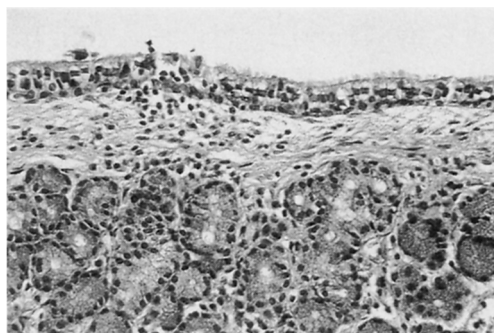


Fig 2 アルコール死菌投与群 (4週後屠殺群)の光顕像 (PAS染色)

次に、走査電顕での観察結果は、アルコール死菌投与群では繊毛の脱落はほとんど認められなかった (Fig 3).

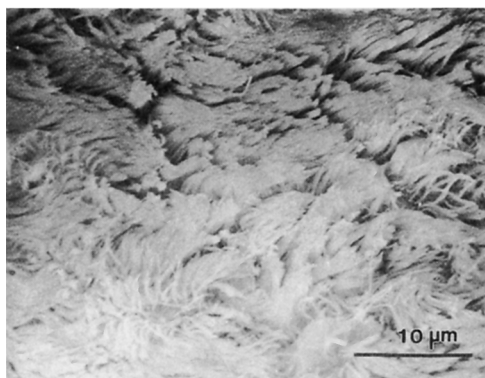


Fig 3 アルコール死菌投与群の走査電顕像

これに対し、マーズニン死菌投与群では繊毛の脱落が認められた (Fig 4).

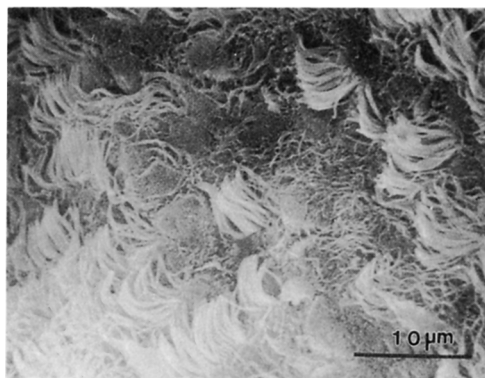


Fig 4 マーズニン死菌投与群の走査電顕像

以上の電顕所見は、アルコール死菌投与群とマーズニン死菌投与群との著明な差として認められた。なお、アルコール死菌投与群およびマーズニン死菌投与群内での2週後と4週後屠殺群の比較では、著明な差は認められなかった (Table 1).

考 察

アルコール死菌とマーズニン死菌の莢膜量を coagglutination technique を用いて定性的に検索すると、マーズニン死菌はアルコー

ル死菌より著明に莢膜量が多いことが判明した (Fig 5).

	アルコール死菌		マーズニン死菌	
	右	左	右	左
2 週 後	—	—	+	+
屠 殺 群	—	—	++	++
4 週 後	—	—	+	++
屠 殺 群	—	—	++	+

- 繊毛の脱落が認められない
- + 繊毛の脱落が認められた
- ++ 繊毛の脱落が著明に認められた

Table 1 走査電顕による副鼻腔粘膜の観察結果

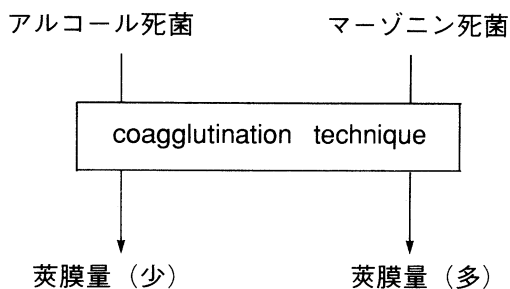


Fig 5 莢膜量の定性的検索

今回の実験結果で注目すべきことは、莢膜量の少ないアルコール死菌投与群では、繊毛の脱落がほとんど認められなかったのに対し、アルコール死菌より莢膜量の著明に多いマーズニン死菌投与群では繊毛の脱落が認められたことである。このことにより、*H.influenzae* type B による副鼻腔粘膜の障害は莢膜物質が主役であると言える。

H.influenzae の莢膜を構成する物質は、ポリリボフォスフェイトで、菌のビルレンスに深い関係をもつことが知られている⁸⁾が、実際にポリリボフォスフェイトにより副鼻腔粘膜の障害が起こるかどうかは不明である。

今後、抽出した莢膜物質、さらに莢膜より抽出精製した物質による追加実験を行い、この点を明らかにする必要がある。

ま と め

家兎に対し、卵白アルブミンの全身および局所の感作後、副鼻腔へ *H. influenzae* type B 死菌の注入を行い以下の結果を得た。

1. 顕微鏡的観察結果は、アルコール死菌投与群とマーゾニン死菌投与群との間で著明な差は認められなかった。
2. 走査電顕を用いた観察では、莢膜量の少ないアルコール死菌投与群では、副鼻腔粘膜の繊毛の脱落はほとんど認められなかったのに対し、莢膜量の多いマーゾニン死菌投与群では、副鼻腔粘膜の繊毛の脱落が認められた。
3. 2の結果より莢膜物質が、副鼻腔粘膜の繊毛障害を起こす主役であると考えられた。

4. 今後、抽出した莢膜物質により実験を追加したい。

文 献

- 1) 和久田幸之助 他：死菌をもちいた家兎副鼻腔炎モデルの作成，日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌，9：269-272，1991.
- 2) Maeyama T：A study of experimental sinusitis in rabbits, *Auris Larynx*, 8：87-98, 1981.
- 3) RENE J. DUBOS. et al：Bacterial and mycotic infections of man, 724-741 J. B. Lippincott Company. Philadelphia Montreal. 1792.

質 疑 応 答

質問 久松建一（山梨医科大学）

マーゾニンのみの注入実験を施行した経験はあるか。

マーゾニン死菌のマーゾニンは完全に除去されているのか。

応答 山本史郎（県立奈良病院）

0.1%マーゾニンで処理後、生食で洗浄をしているので、マーゾニンの影響はないと考えている。