



顎顔面領域の感染症進展に与える白血球減少症および低蛋白血症の影響に関する研究：ラットカラゲニン頬部膿瘍モデルを用いて

大塚, 芳基

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1998-03-06

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2210

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002210>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	大塚芳基 (兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	博ろ第1625号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与の日付	平成10年3月6日
学位論文題目	顎顔面領域の感染症進展に与える白血球減少症および定蛋白血症の影響に関する研究 —ラットカラゲニン頬部膿瘍モデルを用いて—
審査委員	主査 教授 島田桂吉 教授 守殿貞夫 教授 伊東宏

論文内容の要旨

I. 緒言

口腔感染症は、口腔常在の弱毒菌による内因性感染であり、宿主の免疫能の低下が強く関与するとされているが、その根拠についてはあまり明確にされていない。我々も、これまでに口腔蜂窩織炎と全身状態について検討し、特に治療に長期間を要した難治例では、高齢と低栄養がリスク要因と考えられた。しかし、蜂窩織炎の発症とその背景因子については一定の傾向は認められなかった。

全身感染の発症と免疫能の関係について検討した報告は多いが、抵抗力の低下に伴う局所感染の成立に関する検討は少なく、顎顔面領域の感染症についてはほとんどみられない。

そこで、著者は本領域における感染症成立と全身的要因の関連性を明らかにすることを目的に、免疫能低下モデルを作製して局所に細菌を接種し、対照群と異なっているのかを比較した。全身的な免疫能低下には種々の報告がみられるが、今回は作製が簡単でしかも再現性が高く感染実験によく用いられている白血球減少モデルと、口腔蜂窩織炎の難治例における我々の検討結果からリスク要因と考えられた低蛋白血症モデルを作製した。

一方、従来の顎顔面における局所感染モデルは、細菌接種後の再現性の問題や試料採取に時期的な制約があり、炎症時期別に詳細を検討するには適切なモデルとは言い難い面もある。その点、吉位らの報告したラットの無菌的頬部カラゲニン炎症は、慢性期には膿瘍腔が確実に形成されることから、著者は本炎症に着目し、膿瘍腔内へ細菌を接種することでその後の菌の消長が容易に観察できるものと考えた。そこで、cyclophosphamide (以下CPA)による白血球減少ラットと低蛋白飼料で摂食制限をして飼育した低蛋白血症ラットの頬部にカラゲニン炎症を作製し、*S. pyogenes* S-8を接種して正常な対照群と病態や生菌数の変化を比較検討した。

II. 白血球減少ラット頬部膿瘍モデルを用いた感染実験

1) 白血球減少頬部膿瘍モデルの作製方法

動物は、体重約180gのWistar系雄性ラットで、2%のλ-カラゲニン生理食塩水懸濁液0.5mlを、

咬筋部中央皮下に注射して頬部に炎症を惹起した。腫脹外径は、5日目以降ほぼ一定の大きさとなり、病理組織学的にも炎症細胞浸潤の少ない膿瘍腔が形成されたため、5日目にCPAをone shot 静注(100mg/kg)して白血球減少モデルを作製した。CPAを投与後3日目の白血球数は対照群の約1/8まで、5日目には1/12まで低下し最低となった。

2) 感染実験材料および方法

使用菌株は*S.pyogenes*S-8で、頬部膿瘍腔内への細菌接種はCPA投与後3日目に行い、接種量は0.2ml (2×10^7 cfu)とした。菌接種後、腫脹外径、膿瘍内浸出液重量、病理組織学的変化、および細菌の消長について経時的に検討した。生菌数の測定は、37°Cで20時間培養後のコロニー数を計算して行った。

3) 結果

CPA投与後3~5日目で白血球数は1/8~1/12に減少していたが、*S.pyogenes*S-8接種後の腫脹外径および浸出液重量は、白血球減少群が対照群に比べて全般に小さく炎症の程度は軽度であり、病理組織学的にも炎症細胞浸潤は対照群の方が顕著にみられた。ただし、白血球減少群では細胞浸潤は弱いながら長時間持続する傾向がみられた。膿瘍内生菌数も対照群に比べて著しい増加はみられなかったものの、接種菌量と同程度ないしはそれ以上の菌数が対照群よりも長く保たれていた。

III. 低蛋白血症ラット頬部膿瘍モデルを用いた感染実験

1) 低蛋白血症モデルの作製方法

使用動物はWistar系雄性ラット(体重約180g)で対照群では20%Casein含有の標準食を自由摂取させ、低蛋白血症群では8%Casein含有の低蛋白食を1日1匹4gに制限し、3週間飼育した。低蛋白食開始からもとの体重よりも減少し始め、3週目になると体重は平均120gで開始時に比べると35.1%の減少がみられ、対照群と比較すると低蛋白血症群の体重は3週目では35.6%であった。肉眼的にも、体格の違いは明らかであったが、特に病的と思われる所見はみられなかった。血清蛋白量については、Tpは平均6.025から4.950に、Albは3.875から3.250に低下し、減少率はそれぞれ17.8%、16.1%で有意差($p < 0.05$)が認められた。

2) 感染実験材料および方法

低蛋白食開始13日目にカラニゲン頬部膿瘍を作製し、膿瘍作製8日目(低蛋白食餌開始3週目)に菌を接種した。感染実験方法は、白血球減少頬部膿瘍モデルと同様に行った。

3) 結果

低蛋白血症群における*S.pyogenes*S-8接種後の頬部膿瘍外径ならびに膿瘍内の浸出液重量は、菌接種後48時間まで徐々に増加し、病理組織学的にも経時的に細胞浸潤が増強する所見がみられた。膿瘍内生菌数は、接種後24時間以降から対照群よりも増加しており、有意差が認められた。

IV. 考察

我々が作製した白血球減少モデルは、白血球数が1/8~1/12程度まで減少していたが*S.pyogenes*S-8接種後の生菌数は対照群に比べて著しい増加は認められなかった。しかし、他の領域で報告されている白血球減少モデルを用いた感染実験をみると、今回と同程度の白血球減少でも対照群とは明らかに異なる感染病態を示しており、臓器によっては敗血症も生じるほどの差がみられる。従って、全身的な抵抗力がかなり低下していても、顎顔面領域は感染防御能が比較的強いことが想像される。臨床的には、歯科・口腔外科で最も頻度の高い手術である抜歯を例にとると、創部が顎骨骨髓腔に達す

る開放創になるにもかかわらず、術後感染の頻度は2～数%と報告されており、決して高くはない。また、我々の行った顎顔面外傷の調査では創部感染の頻度は4.3%であったが、いずれも表在性の感染であり、骨髓炎に至った症例は認められなかった。それに対して、四肢開放骨折では21.5%に感染がみられ、2.9%が骨髓炎を併発しており、顎骨に比較すると四肢骨の感染頻度は極めて高いと考えられる。

一方、低蛋白血症モデルにおける菌接種後の膿瘍外径と浸出液重量は、全般に対照群に比べ低値であったが、48時間後には対照群と同程度になっていた。病理組織学的にも、対照群では炎症が経時的に軽減したのに対して、低蛋白血症群は徐々に細胞浸潤が強くなり範囲も拡大する傾向がみられた。このように低蛋白血症群では対照群よりも遅れて炎症反応が現れていたが、膿瘍内生菌数は対照群に比べて早い時期から増加がみられており、統計学的に有意差が認められた。これらは、白血球減少群とは異なる反応であり、今回検討した範囲では低蛋白血症においてより感染防御能の低下が示された。Albは1/3～1/2が血管内、残りが筋肉と内臓に分布しているが、摂取蛋白量が急激に減少しAlbの合成量が低下しても、背後の大きな血管外Albプールより動員され血中濃度は維持される。本実験における低蛋白血症は、Tpは17.8%、Albは16.1%低下しており、かなり重症の蛋白栄養障害をきたしているものと思われるが、今後は免疫学的なパラメーターについても検索する必要があるものと考えている。

V. 結語

白血球減少群での炎症細胞浸潤は対照群よりも長時間持続したが、1/8～1/12まで白血球を減少させても生菌数の著しい増加がみられず、白血球数は一定以上あれば感染症の発症に必ずしも影響しないことが示された。一方、低蛋白血症群における生菌数の変化は、接種後早期に対照群よりも増加する傾向がみられ、低蛋白血症は感染症の発症に強く影響することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

【研究目的】

顎顔面口腔領域の感染症に関して、局所免疫能の低下との関連性については既に当教室でその一部を検討してきたが、臨床的に治療に抵抗性の難治感染症を考察すると、全身的背景を無視できず、なかでも感染成立後、進展する重症例は高齢者または低栄養状態の患者であることが少なくない。

申請者は本領域の感染症成立と全身的风险要因を実験的に検討する目的で、その背景因子として、白血球減少症と低蛋白血症の病態を設定した。実験モデルには当教室の吉位らが開発したカラゲニン発炎頬部膿瘍ラットモデルを選び、同モデルに白血球減少及び低蛋白血症の病態をそれぞれ作製し、頬部膿瘍腔内へ接種した菌の動向を詳細に検索して本研究を行った。

【実験材料および方法】

白血球減少頬部膿瘍モデルはWistar系雄性ラットの咬筋中央部皮下にλ-カラゲニンを注入、膿瘍腔の形成をまって、Cyclophosphamide (CPA)をone shot静注し、感染実験モデルは、CAP投与後3日目にモデルの頬部膿瘍腔内へ *S. pyogenes*S-8 (2×10^7 cfu)を接種して作製した。白血球数は正常ラット対照群の約1/8から1/12まで減少した。菌接種後、膿瘍外径、膿瘍内浸出液重量、病理組織学的変化、および接種菌の消長を経時的に検索した。生菌数の測定は、37℃で20時間培養後のコロニー数を計算して行った。

低蛋白血症頬部膿瘍モデルはラットカラゲニン頬部膿瘍モデルに8%Casein含有の低蛋白食を1日4gに制限して摂食させ、3週間飼育して作製した。正常ラット対照群に比して、血清蛋白量はTpで減少率は17.8%、Albで16.1% ($p < 0.05$)と有意に減少し、有用な低蛋白血症実験モデルが開発された。感染実験モデルは白血球減少モデルの作製と同様に低蛋白食開始13日目にカラゲニンでラットに頬部膿瘍を形成させ、血清蛋白量が有意に減少した低蛋白食開始3週目に*S. pyogenes*S-8を膿瘍腔内に接種して作製した。菌接種後の検索は白血球減少頬部膿瘍モデルと同様の項目について行った。

【実験結果と評価】

本研究の結果を白血球減少モデルと低蛋白血症モデルとに別けてそれぞれについて総括すると以下の如くである。

1. 白血球減少モデルについては菌接種後の膿瘍外径および膿瘍内浸出液重量は正常対照群に比して一般的に小さく、また、病理組織学的所見でも対照群の方に炎症細胞浸潤が強く認められた。膿瘍内生菌数では両群ともに36時間までは菌接種時と同程度の菌量が持続されるが36時間を過ぎると正常対照群は有意に減少し、実験群では48時間以上に亘って接種時の菌量が維持された。実験結果は白血球減少状態においては、感染進展性が長時間潜在して持続していることを示唆すると同時に、一方で白血球数が1/10に減少しても頬部の感染発症には必ずしも強い影響を与えていないことを示している。
2. 低蛋白血症モデルでは膿瘍外径と膿瘍内浸出液重量は菌接種後48時間までは対照群に比して低値を示すが、以後徐々に増加し、48時間を過ぎると経時的に細胞浸潤像も増強し始め、対照群との差が見られなくなる。一方、膿瘍内生菌数は菌接種後より増え続け、24時間以降からは対照群より明らかに有意 ($p < 0.05$) に増加した。以上の結果から低蛋白血症は本領域感染症の発症に強く影響し、関与することが推測される。

本研究は顎顔面口腔領域の感染症の発症について、実験的にその背景となる全身的要因を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった本領域感染症の局所感染と臨床で指摘される白血球減少症および低蛋白血症の関与について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。