

平 冨 洋 一 (長崎県) 昭和37年1月13日生

授与年月日 平成3年3月31日

主 論 文 Role of Bacterial Association with
Kupffer Cells in Occurrence of En-
dogenous Systemic Bacteremia

論文内容の要旨

緒 言

優れた抗菌薬の開発にもかかわらず、免疫抑制患者に発症する敗血症の発症率及び死亡率は依然として高い。このような感染症は、しばしば内因性感染の形をとり、臨床的に先行する感染症を認めることなく、患者自身の細菌叢、特に腸管細菌叢に由来する潜在的病原細菌により惹起される。ヒトの腸管内には様々な細菌が存在するが、菌血症起炎菌として分離されるのは一部の菌種に限られ、その菌種はたとえ腸管内の優位菌であっても、菌血症を引き起こすのは稀である。一方で、潰瘍性大腸炎などの患者において、末梢血が無菌であるにもかかわらず、門脈血から細菌が分離される門脈菌血症が報告されている。

そこで、腸管細菌叢の異なる conventional (CV) マウスと specific-pathogen-free (SPF) マウスを用いて内因性菌血症マウスを作製し、それぞれのマウスの心血及び、門脈血からの細菌の分離頻度及び分離菌の種類について検討した。次に、菌血症マウス分離菌のマウス血中からのクリアランス率及び in vitro におけるマウスの Kupffer 細胞との親和性を比較検討し、菌血症の発症機序について検討を行った。

材料と方法

菌血症モデルの作製には d d Y 系、雄性の CV 及び SPF マウスを用い、これらの腹腔内に cyclophosphamide 及び ampicillin を投与した。死亡したマウスの心血及び門脈血を直ちに無菌的に採取し、細菌学的検討を行った。死亡しないマウスは14日目に屠殺し、同様の処置を行った。これらの分離菌のうち、全身性菌血症起炎菌である *Pseudomonas aeruginosa* D4, *Morganella morganii* L48, 門脈菌血症起炎菌である *Escherichia coli* L424, *Enterobacter cloacae* L522, *Klebsiella pneumoniae* H29, *Enterococcus faecalis* L425 の6株を用い、以下の実験を行った。マウスの尾静脈より投与した各菌株の、経時的な血液からのクリアランス率を測定した。マウスの Kupffer 細胞は collagenase 灌流法により分離し、カルチャーチェンバー

スライド内で細菌と共に60分間培養し、アクリジンオレンジ染色を行い付着貪食菌数を計数した。付着因子である各細菌のマンノース感受性、菌体表面のマンノースの有無、疎水性の比較は、それぞれマンノースコーティングビーズ, concanavalin A, ヘキサデカンを用いて検討した。

結果と考察

CV及びSPFマウスにおける菌血症の発症率はそれぞれ83.3% (n=30), 20.3% (n=133)で、前者では*P. aeruginosa*が53.3%, 後者では*M. organii*が66.7%と最も高頻度に分離された。菌血症マウスの死亡率はCVマウスで64.0%, SPFマウスでは3.7%であり、死亡したマウスのうち、1匹を除く全てのマウスから*P. aeruginosa*が分離された。実験前にSPFマウスは*P. aeruginosa*を糞便中に保有しないことが確認されており、同菌を腸管細菌叢として保有するか否かが菌血症の発症率・死亡率に大きく関与しているものと考えられた。CV及びSPFマウスに共通して、*P. aeruginosa*と*M. organii*は大部分が全身性菌血症起炎菌として分離され、*E. coli*などの腸内細菌やEnterococciなどは門脈菌血症起炎菌として分離された。マウスの尾静脈より投与された門脈菌血症起炎菌の血液からのクリアランス率は、全身性菌血症起炎菌の約100~1000倍高く、投与された細菌の大部分は肝臓より回収された。Kupffer細胞による門脈菌血症起炎菌の付着貪食率は全身性菌血症起炎菌のそれに比し有意に高く、この現象はマウス血清の有無、温度の影響を受けないことより、主にnonopsonic phagocytosisのadherenceの過程を反映しているものと考えられた。これらの細菌は、いずれもマンノースあるいはマンノース型のレクチンを有していたが、これらの菌株の血中クリアランスにおいて、マンノースによる競合阻害は認められなかった。また、菌体表面の疎水性については、*E. faecalis* L425のみが高い疎水性を有し、その他の細菌はむしろ親水性であった。したがって、同株を除く門脈菌血症起炎菌ではマンノースや疎水性以外の因子がその付着貪食に関与していると考えられ、複数の付着因子を保有する可能性も考えられた。

結語

マウスを用いてヒトにみられる院内発生型の菌血症に類似した病態を作製し、その発症機序について検討を行った。マウスにおける内因性菌血症起炎菌は*P. aeruginosa*などの全身性菌血症を起こしやすい菌種と*E. coli*などの門脈菌血症に留まりやすい菌種とに大別された。門脈菌血症起炎菌は、マウスの血中よりクリアランスされやすく、Kupffer細胞との親和性が高いことがその原因と考えられ、各々の付着因子についてはさらに検討が必要と思われる。腸管細菌叢によ

る内因性菌血症において、細菌とKupffer細胞との親和性はその病態に大きく関与し、腸管より門脈行性に血中へ侵入した細菌のうち、肝臓によるクリアランスに抵抗性を有するものが、臨床上の菌血症起炎菌として分離されるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

平冨洋一は昭和61年山口大学医学部を卒業。同年6月より昭和62年3月まで長崎大学医学部附属病院第二内科で研修。同年4月長崎大学大学院医学研究科に入学し、臨床検査医学を主科目として所定の単位を取得した。この間、臼井敏明教授の指導のもとに臨床細菌学、特に敗血症の発症機序に関する研究を行い、学位論文「Role of Bacterial Association with Kupffer Cells in Occurrence of Endogenous Systemic Bacteremia」を主論文として完成し、他に5編の参考文献を添え、医学研究科委員会に提出した。同委員会は平成3年3月20日の定例委員会において論文内容の要旨を検討し、上記の通り審査委員を選定した上で主査を中心に慎重審査を行い、その結果を定例委員会において報告した。

主論文は、白血病その他の免疫抑制患者にしばしば認められる内因性敗血症の発症機序について、動物実験モデルを作製し、Kupffer細胞の役割について検討を行ったものである。すなわち、マウスにcyclophosphamideを投与し顆粒球減少状態とし、ampicillinを投与し常在細菌叢を攪乱し、内因性菌血症を発症したマウスの心血及び門脈血について細菌学的検討を行った。その結果、菌血症起炎菌は*P. aeruginosa*などの全身性菌血症起炎菌と*E. coli*などの門脈菌血症起炎菌とに大別された。さらに、このような菌種による菌血症の病態の差異を解明するために、代表的な菌血症起炎菌を用いて、in vivoにおけるマウス血中からのクリアランス率、in situにおける肝臓からのクリアランス率、およびin vitroにおけるKupffer細胞との親和性について比較検討を行った。その結果、門脈菌血症起炎菌は、全身性菌血症起炎菌に比し、速やかに血液よりクリアランスされ、これは主に肝臓によるクリアランス率の差を反映していると考えられた。Kupffer細胞との親和性は前者において有意に高く、このような細菌とKupffer細胞との親和性の高低が菌血症の病態に大きく関与していることが示唆された。今回の実験により、門脈行性の内因性菌血症において、Kupffer細胞による付着貪食、肝臓によるクリアランスに抵抗性を有するものが、臨床上の菌血症起炎菌として分離されやすいものと考えられた。

以上、本研究は内因性敗血症の発症機序の解明に有益な示唆を与えるものと考えられた。医学研究科委員会は審査委員の報告に基づきこれを検討した結果、本

研究は医学に貢献するところ大であって学位に値するものとして合格と判定した。

| | | | |
|-------|----|----|------|
| 審査担当者 | 主査 | 教授 | 白井敏明 |
| | 副査 | 教授 | 松本慶蔵 |
| | 副査 | 教授 | 原耕平 |