

致死性肺炎桿菌性マウス実験肺炎を場とする 化学療法とステロイド剤併用療法の研究

宇 塚 良 夫

長崎大学熱帯医学研究所内科

(昭和 59 年 12 月 5 日受付)

重症グラム陰性桿菌性肺炎の化学療法解析ならびに副腎皮質ステロイド剤の救命効果を明らかにする目的で、肺炎桿菌 B-54 株による致死性マウス肺炎を場として実験を行ない、ステロイド剤による救命効果の一部を明らかにするとともに、化学療法上、重大な事実を見出した。

肺炎病巣中に起炎菌の MIC を上回る充分な濃度の抗生物質が移行する化学療法スケジュールを実施すれば、プレドニゾロンの併用は、治療開始初期の肺内生菌数の消長に影響しない。しかし、重篤化し、肺内菌数が非常に増加した時点で殺菌力の優れた強力な化学療法を実施すると、肺内で菌体が急速に崩壊し、血中エンドトキシン量の増加、血中プロスタグランジンの増加、肺組織で血管周囲の浮腫性変化の増加、更に、治療開始初期の急性死が認められた。プロスタグランジン、浮腫性病変、および急性死は、プレドニゾロンを同時に併用投与することで抑制された。

少数例であるが、第Ⅲ世代セフェム剤を投与した肺炎症例で、血中 TXB₂ の増加が認められた。したがって、重篤な感染症患者に強力な化学療法を実施するにあたっては、体内における急激な溶菌がもたらす結果に充分な考慮を払い、副次的な反応に対する処置をも含む、新しい化学療法理論の確立が必要である。

近年、本邦においては、老人人口の増加、重篤な基礎疾患を有する患者の延命による各種の免疫不全患者の増加に基づき、重症・難治性肺炎の増加が著しく、終末期肺炎の比重を増しつつある。一方、新たな抗生物質の開発による化学療法の進歩も著しく、従来の感染症の治療は、極めて容易なものとなった。しかしながら、前述の免疫不全・易感染患者においては、交代菌の出現、耐性菌の出現により、難治化する新たな課題を生じており、これらの問題に対処する新しい化学療法理論の確立が求められる。私共は、この重症肺炎における化学療法を解析する手段として、噴霧吸入感染による致死性肺炎桿菌性マウス肺炎モデルを確立¹⁾し、肺内の起炎菌の消長と肺炎形成および化学療法による治療課程の解析^{2,3)}、化学療法の効率化の検討⁴⁾などの報告を行なった。更に、重篤な肺炎の治療において臨床上不可欠ともいえる抗炎症療法併用の研究を行なう課程において、今後の化学療法の展開にとって、重大な事実を見出した。重篤な感染症に対する副腎皮質ステロイド剤の併用が、時に救命効果を示すことは、臨床的に昔から認められる⁵⁻⁷⁾。一方では、これに反対の報告もあり、明確な臨床的、あるいは、実験的証明が困難なことが、その因と思われる^{8,9)}。私共の確立した実験肺炎モデルは、同一条件の均一な重症肺炎を容易に作製できることから、本実験系を用いて

ステロイド剤の救命効果の証明を試みた。本研究において、抗菌力の優れた新しい抗生物質による強力な化学療法が、時に宿主を死に追いやり、ステロイド剤の併用がこれを防止できることを見出した。この事実は、今後の臨床における強力な化学療法の普及とともに大きな問題になると考えられる。

I. 実験方法および材料

1. 肺炎作製法および肺内菌数測定法

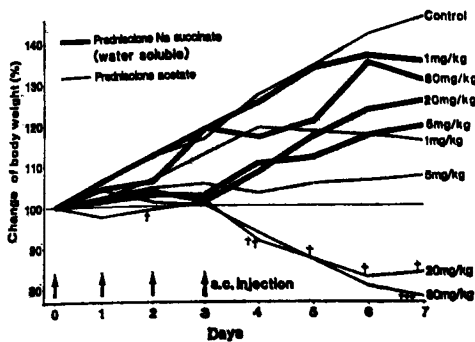
詳細は前報¹⁻⁴⁾に述べているので、要点のみ記す。

ddY マウス、オス体重 10~15g、1回 100~150 匹を私共の噴霧感染装置に入れ、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) B-54 株 (LD₅₀; 9.7×10 CFU/マウス) の 2×10⁹ CFU/ml 菌液 10 ml を噴霧吸入させ、全マウスに約 500 LD₅₀ の菌をテイクさせる。これにより、マウス肺内の菌は、3~6 時間の初期クリアランスの後急激に増加し、12 時間以後肺炎を発症する。24 時間頃から菌血症を伴う重症肺炎となり、48~72 時間ですべて死亡する。

肺内生菌数測定には、1 測定点当たり 3 匹を用い、脱血屠殺した後、肺を汚染せぬように摘出する。摘出した肺を化学天秤にて秤量後、滅菌乳鉢にて磨砕し、滅菌生食水にて希釈して定量培養を行なった。各時点における肺内生菌数は、3 匹の値の幾何平均値をもって表わした。

Fig. 1 Effect of prednisolone on the body weight of mice.

ddY mice, male, body weight; 10~15 g, n=10



2. 抗生物質投与方法

CEZ, CMX, LMOX 各々 50 mg/kg を 1 回量としてマウスの臀部に皮下注射した。また, GM は 1 回 1 または 10 mg/kg を併用投与した。注射液量が 1 回 0.005 ml/g となるように抗生物質濃度を調整し, GM 併用の場合は, 2 倍濃度の各薬剤を投与直前に混合して注射液を作製した。

用いた抗生物質の肺炎桿菌 B-54 株に対する MIC は, CEZ 1.56 μ g/ml, CMX 0.013 μ g/ml, LMOX 0.025 μ g/ml, GM 0.39 μ g/ml で, 日本化学療法学会標準法 (10^6 /ml 菌液接種) でも, 液体培地法 (10^4 /ml 接種) でも同一であった。

3. 抗生物質血中・肺内濃度測定法

鎖骨下動脈を切断して血液を採取し, 血清を分離して血中濃度測定用検体とした。脱血屠殺後摘出した肺は滅菌乳鉢で磨砕後, 2 倍量の滅菌生食水を加えてホモジナイズし, 肺内濃度測定用検体とした。

濃度測定はいずれも薄層カップ法による生物学的測定にて行ない, 検定菌は, CEZ, GM は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用い, CMX には, *Proteus mirabilis* ATCC 21100 を用いた。濃度測定用培地は, 前者には Trypticase Soy Agar (BBL), 後者には DST Agar (Oxoid) を使用した。

4. ステロイド剤投与方法

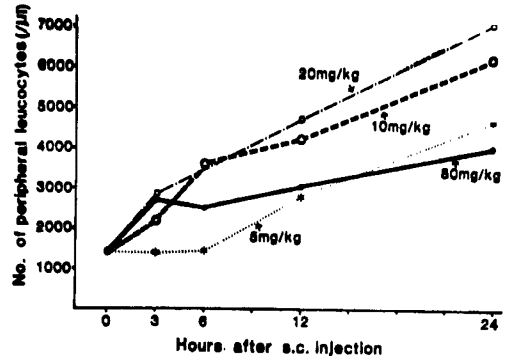
プレドニゾンをを用い, 1 回 10, 1, 0.1 mg/kg をマウスの臀部皮下に注射した。水性プレドニン (塩野義製薬) (Prednisolone Na succinate) および油性プレドニン (塩野義製薬) (Prednisolone acetate) を用い, それぞれ, 1 回の注射液量が 0.005 ml/g となるように, 抗生物質の場合と同様に滅菌生食水で希釈して作製した。

5. 血中エンドトキソンの測定

鎖骨下動脈を切断して血液を採取し, 血清を分離し,

Fig. 2 Effect of prednisolone on the number of peripheral leucocytes in mice.

ddY mice, male, body weight; 10~15 g, n=10



Limulus 法により, エンドトキソンの検出を行なった。プレゲル (帝國臓器) を用い, 半定量法によって, エンドトキソンの多寡を比較した。

6. 血中プロスタグランジンの測定

鎖骨下動脈を切断して血液を採取し, 直ちに 1.2 mg/ml の EDTA-2 K と 3.6 μ g/ml のインドメサシンを加えて氷冷し, 2,000 rpm 10 分間遠心して上清を分離し, -75°C で凍結し, ラジオ・イムノ・アッセイにて, トロンボキサン B 2 (TXB 2), プロスタグランジン E (PGE), および 6-ケト・プロスタグランジン F1 α (6-Keto-PGF1 α) を測定した。測定は, 北里バイオケミカルの検査室に依頼し, ヒトの測定系で行ない, すべての実験でコントロールとの比較を行なった。

7. 病理組織学的検討

一部の実験においては, 摘出した肺の凍結切片標本, およびパラフィン包埋標本を作製し, H-E 染色による病理組織学的比較の他, グラム染色, 蛍光抗体染色, 酵素抗体染色, PAS 染色によって, 肺組織内における細菌の局在と菌の形態を比較した。蛍光抗体法および酵素抗体法には, いずれも間接法を用い, 肺炎桿菌 B-54 株に対する抗体は, 市販の肺炎桿菌 type I の莢膜に対する抗血清 (Difco) を使用した。PAS 染色は, 用いている肺炎桿菌 B-54 株が, 非常に厚い莢膜を有し, かつ, 多量のムチンを産生するところから, 試みに検討したものである。PAS 染色によって本菌が極めて明瞭に染色され, また, 蛍光抗体法や酵素抗体法に比べて, パラフィン包埋切片でも常に明瞭に染色され, かつ長期間の保存に耐えることから, 本実験系においては, 最適の染色法といえる。

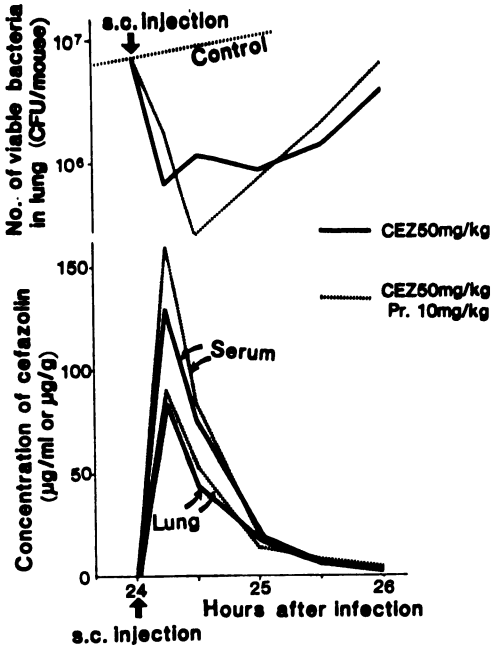
II. 成績

1. マウスに対するステロイド剤の基本的影響の検討

(1) マウスの体重増加に及ぼす影響

Fig. 3 Concentrations of cefazolin (CEZ) in serum and lung, and change of bacterial counts in lungs of mice treated with cefazolin alone or combined with prednisolone.

ddY mice, male, body weight ; 10~15g, n=10
 cefazolin : 50 mg/kg s. c. injection
 prednisolone : 10 mg/kg s. c. injection



水性プレドニンおよび油性プレドニンを、各々4種類の投与量で、24時間ごとに4回投与した時の、体重増加曲線を Fig. 1 に示す。油性プレドニンでは、1回 5mg/kg 以上の投与では、体重は増加せず、20mg/kg 以上では、体重が減少して一部のマウスは死亡する。水性プレドニンでは、1mg/kg の投与では、体重はコントロールとほぼ等しい増加を示した。5mg/kg 以上では体重増加の抑制が認められたが、7日目までに死亡したものはない。したがって、今回の実験では、水性プレドニンを用いることとした。

(2) 末梢血白血球数に及ぼす影響

水性プレドニン 5~80 mg/kg を皮下注射し、24時間後までの末梢血中白血球数を測定した成績を Fig. 2 に示す。各測定点は、1群3匹の平均値で示している。いずれの投与量においても、白血球数は増加しているが、特に 10 および 20 mg/kg 投与で増加が著明で1回投与後 24 時間以上にわたって増加を続けている。

以上の結果から、今回の実験には、水性プレドニンを使用し、1回投与量は 10 mg/kg を標準と定めた。

2. 肺炎マウスにおけるステロイド併用の影響

(1) 感染 24 時間後に CEZ 50 mg/kg と水性プレドニン 10 mg/kg を同時に投与した時の、肺内生菌数の変動と CEZ の血中濃度および肺内濃度を Fig. 3 に示す。血中および肺内 CEZ 濃度は、ステロイドの併用の有無では、ほとんど変化せず、肺内生菌数の増減にも有意の変化は、認められなかった。更に、感染 12 時間後の投与、CMX との併用でも繰り返し実験を行なったが、い

Fig. 4 Influence of prednisolone on bacterial clearance from lungs of mice treated with effective antibiotics.

treatment start at 12 hours after infection
 ddY mice, male, body weight ; 10~15g, n=3
 cefazolin : 50 mg/kg s. c. injection every 90 min.
 prednisolone : 10 mg/kg s. c. injection

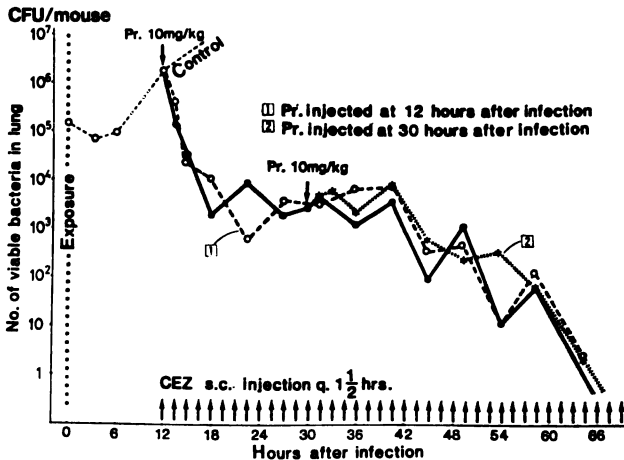


Fig. 5 Influence of prednisolone on cefasolin therapy for severe pneumonia.

treatment start at 24 hours after infection
 ddY mice, male, body weight ; 10~15 g, n=3
 cefasolin : 50 mg/kg s.c. injection every 60 min.
 prednisolone : 0.1~10 mg/kg s.c. injection

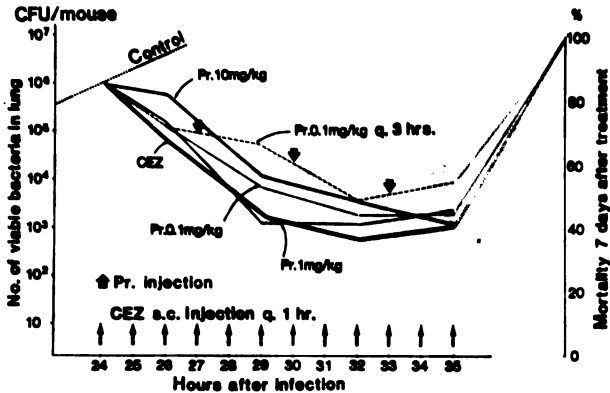
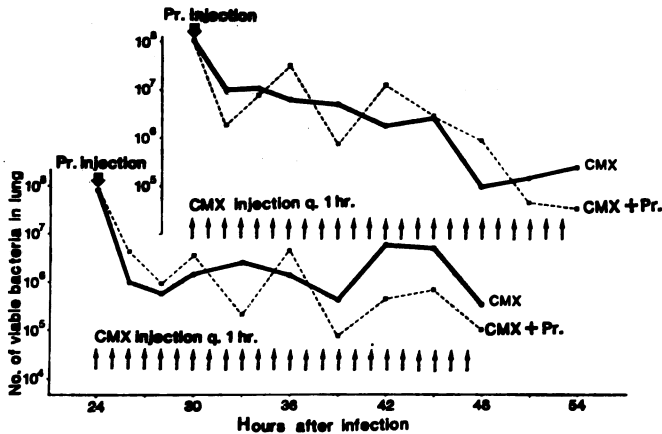


Fig. 6 Influence of prednisolone on cefmenoxime (CMX) therapy for severe pneumonia.

treatment start at 24 or 30 hours after infection
 ddY mice, male, body weight ; 10~15 g, n=3
 cefmenoxime : 50 mg/kg s.c. injection every 60 min.



いずれもステロイド併用の影響は、なかった。

(2) 抗生物質連続投与による治療におけるステロイド併用の影響

① CEZ 50 mg/kg 1.5 時間ごと連続投与における併用

本実験系で肺内生菌数減少の 3 相性パターン²⁾が最も明瞭に現われる、感染 12 時間後からの CEZ 1.5 時間ごと投与による治療の、治療開始時での併用、および第 II 相の時点となる治療開始から更に 18 時間たった時点

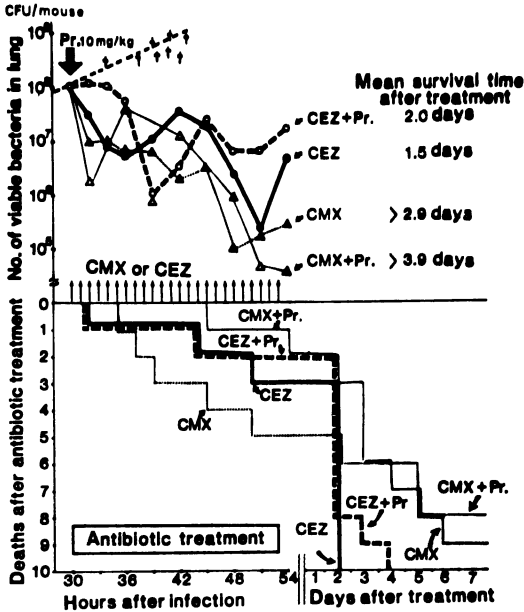
での併用の同時実験成績の一つを Fig. 4 に示す。

図に見るように、いずれの時点のステロイド剤の併用でも、肺内生菌数のカーブは変化せず、既に報告している回帰直線によるパターンの比較でも、3 相性の肺内生菌数減少パターンは変化がなかった。

② 感染 24 時間後からの CEZ 50 mg/kg 1 時間ごと投与における併用

更に肺炎が重症化する、感染 24 時間後から治療を始めた時の成績を、Fig. 5 に示す。感染 24 時間後には、

Fig.7 Influence of prednisolone on antibiotic treatment for very severe pneumonia.
 treatment start at 30 hours after infection
 ddY mice, male, body weight : ca. 12 g ;
 cefazolin : 50 mg/kg s.c. injection every 60 min.
 cefmenoxime : 50 mg/kg s.c. injection every 60 min.



菌血症を伴い、肺は肉眼的にも明白な consolidation を呈している。肺炎の重症度故に、CEZ の 1.5 時間ごと投与では肺内菌数の減少が不十分なため、ここには 1 時間ごと投与の成績のみを提示した。ステロイドの併用

は、治療開始時のみの、0.1, 1.0, および 10 mg/kg の 1 回併用と、0.1 mg/kg 3 時間ごと併用を行なった。コントロール群に比べてステロイド併用群の肺内生菌数減少がやや緩やかであるが、CEZ 12 回投与後の第Ⅱ相での肺内菌数には差はなく、治療中止 7 日後までにすべて肺炎で死亡した。

③ CMX 50 mg/kg 1 時間ごと投与における併用より重篤な肺炎に強力な化学療法を行なうべく、種々の実験を行なったが、その一部を Fig. 6 に示す。感染から 24, および 30 時間後から治療を開始した成績であるが、肺内生菌数は、いずれも約 10^8 CFU/マウスであるが、抗菌力が強く、殺菌性に優れた CMX による治療で、肺内菌数は 2 ないし 3 桁速やかに減少している。この 2 回の実験では、治療開始時に水性プレドニン 10 mg/kg を併用した。いずれも 24 回の抗生物質投与を行なったが、肺内生菌数の減少は第Ⅱ相止まりでステロイド併用の有無にかかわらず治癒には至らなかった。経過中の肺内生菌数の動きは、各ポイントごとに多少の差はあるがステロイドの影響はなかったと考えられる。

④ 最重症肺炎における併用の影響
 更に肺炎が重篤化し、死に瀕するマウスが出現した時点で、治療を開始した成績を Fig. 7 に示す。抗生物質は CEZ および CMX いずれも 1 回 50 mg/kg 1 時間ごと 24 回投与した。ステロイドは、いずれも、治療開始時に水性プレドニン 10 mg/kg を 1 回だけ皮下注した。CMX 投与群の方が菌数減少は大きく、治療中止後の生存曲線も CMX 投与群の方が良好である。しかしながら、ステロイド剤併用の有無では、肺内生菌数変動も、治療中止後の生存曲線にも影響は認め難い。しかるに、

Table 1 Change of bacterial counts in lung and prostaglandins in plasma after combined therapy with cefmenoxime and gentamicin.
 antibiotics injected 30 hours after infection
 cefmenoxime : 50 mg/kg s.c. injection
 gentamicin : 10 mg/kg s.c. injection

	Before	1 hour	2 hours	3 hours
No. of viable bacteria in lung (CFU/mouse)	2×10^8	9×10^6	1×10^7	4×10^6
Mortality		6 / 80 7.5 %	2 / 54 3.7 %	0 / 32 0 %
TXB2 (pg/ml)	2130	38400	>50000	31400
PGE (pg/ml)	38	250	218	NT

Table 2 Influence of prednisolone on endotoxin and prostaglandins in plasma of mice with very severe pneumonia treated with combined therapy of cefmenoxime and gentamicin.

treatment start at 36 hours after infection
 cefmenoxime : 50 mg/kg s.c. injection
 gentamicin : 1 mg/kg s.c. injection
 prednisolone : 10 mg/kg s.c. injection
 endotoxin & prostaglandins measured 1 hour after injection

	Mortality within 1 hour	Endotoxin in plasma	Prostaglandins in plasma (pg/ml)			
			TXB2	PGE	PGF	PGA+B
Control	0 / 20	+	885	<20	185	<20
CMX + GM	3 / 20	++	20050	130	1610	<20
CMX + GM + Pr.	1 / 20	++	14840	114	1869	<20

治療中の死亡マウスの数を比較すると、ステロイドを併用しなかった CMX 単独投与群にのみ死亡するものが多く認められた。各グループのマウスは、感染直後にアト・ランダムに割り振っており、重症度の片寄り、除去するように努めている。死亡したマウスの肺の所見は、出血を伴う広範な肺炎病巣を認め、治療終了時に生存しているマウスを解剖し、肺組織を比較したところ、後述のように、ステロイド併用群に比べて、出血性病巣および血管周囲の浮腫がより強く認められた。

(3) エンドトキシンおよびプロスタグランジンの生成に及ぼす影響

① CMX 50 mg/kg および GM 10 mg/kg 併用投与感染 30 時間後に、強力な化学療法を開始した時の、肺内生菌数の変動、血中プロスタグランジン量、および経時的な死亡マウス数を Table 1 に示す。肺内での殺菌、溶菌をより強める目的で、本実験に用いている肺炎桿菌 B-54 株の殺菌力を著しく強めることが既に明らかになっている GM を併用した。これによって、肺内生菌数は 2×10^8 CFU/マウス から 1 時間以内で約 10^7 CFU/マウス に減少した。死亡マウスは、最初の 1 時間で 7.5%、次の 1 時間では 3.7% であった。この間、コントロール群には死亡したものはなく、抗生物質投与後の死亡は最初の 2 時間以内のみであった。血中の TXB2 および PGE は、抗生物質投与後速やかに増加し、前者は 2 時間以内でピークとなり、後者は 1 時間でピークを示した。

② ステロイド併用の効果

感染 36 時間後に CMX 50 mg/kg と GM 1 mg/kg を皮下注射し、水性プレドニン 10 mg/kg 併用の有無

Fig.8 Histological change of lungs of mice with severe pneumonia treated with cefmenoxime alone or combined with prednisolone.

treatment start at 30 hours after infection
 cefmenoxime : 50 mg/kg s.c. injection every 60 min.
 prednisolone : 10 mg/kg s.c. injection at 30 hours

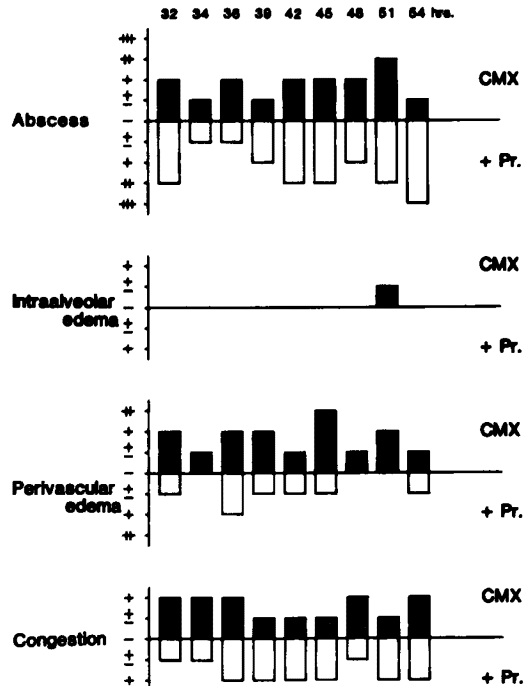


Fig.9 Bacterial cells in lungs of mice with severe pneumonia before antibiotic treatment.
30 hours after infection
Left : fluorescent antibody stain
Right : PAS stain

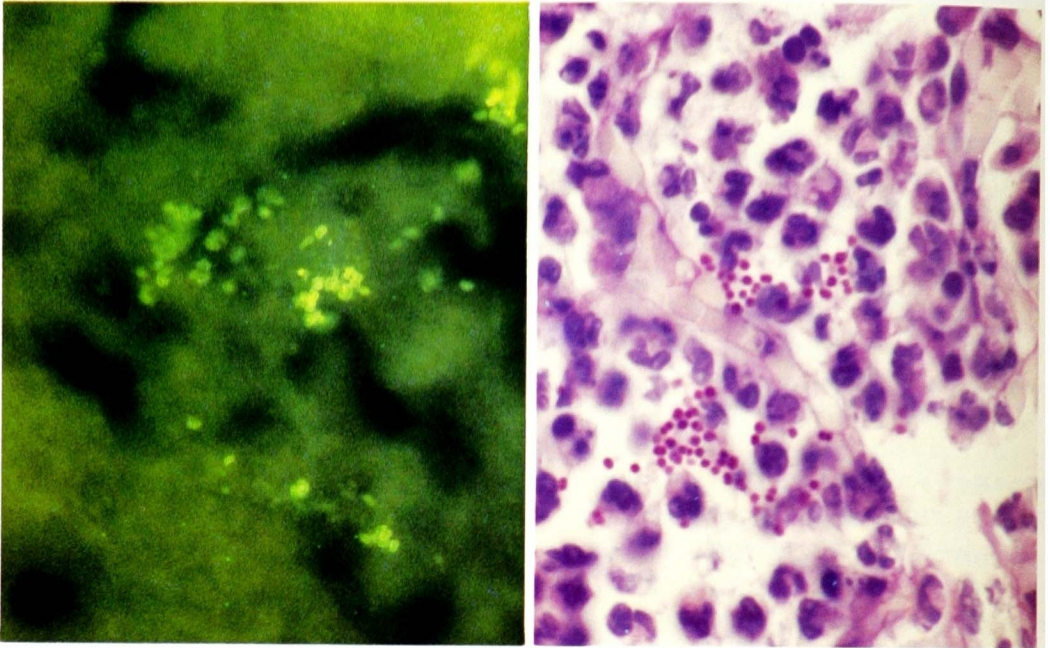


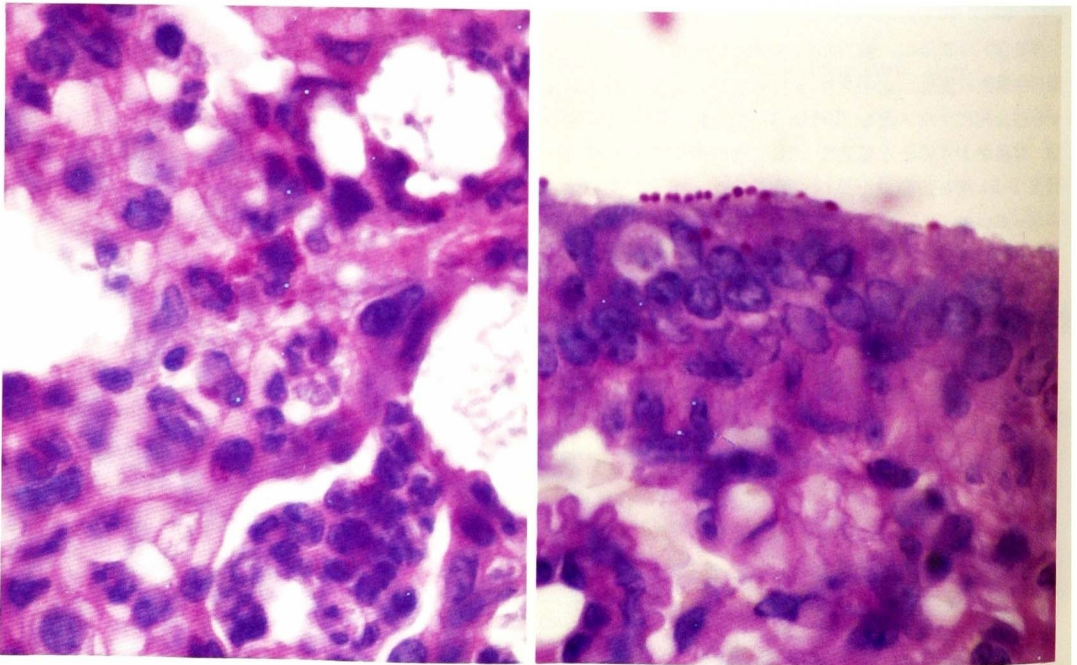
Fig.10 Bacterial cells in lungs of mice 3 hours after cefmenoxime treatment.
cefmenoxime : 50 mg/kg s. c. injection every 60 min.

Left : PAS stain

amorphous PAS positive substance found in alveoli. These may be destroyed bacterial cells.

Right : PAS stain

intact bacterial cells found in the lumen of bronchi



で、投与後1時間での血中エンドトキシン、プロスタグランジン、および1時間以内の死亡率を比較して Table 2 に示した。既に明らかな菌血症を伴う状態であり、無治療群でも血漿中にエンドトキシンが検出されるが、抗生物質を投与した他の2群では *Limulus* テストの反応が明らかに増強した。測定した4種のプロスタグランジンの値は表示の通りであり、特に TXB2 の上昇が著明であった。死亡率では、抗生物質単独群 15%、ステロイド併用群 5% で、無治療群にはやはり死亡マウスは出現しなかった。この数値だけからステロイドの効果を推測することは難しいが、TXB2 の上昇が約 30% 抑制されており、この関係は、別に行なった再実験でも逆転したものはなかった。

(4) 肺病変に対する影響と肺内細菌の形態学的変化
感染 30 時間後の最重篤肺炎に対する CMX 治療におけるプレドニゾロン併用の有無による肺病理組織所見の比較を Fig. 8 に示す。これらの検体は、Fig. 4 に示した実験において同時に採取したものである。1 検体数十視野を観察しての比較であるが、膿瘍形成や鬱血所見は、プレドニゾロン併用の有無でほとんど差がなかったが、血管周囲の浮腫に関しては、プレドニゾロン併用群の方が明らかに軽度であった。

同一の組織を用いて、肺組織内における細菌の局在を検討し、抗生物質投与による肺内での菌体の破壊を確認した。Fig. 9 は、治療開始前の肺組織内における肺炎桿菌 B-54 株で、蛍光抗体法、および PAS 染色で鮮明に染め出されている。未治療群においては、細菌は膿瘍形成部および肺腔内に最も多く認められ、気管支腔内にも多数の白血球と混合した状態で観察された。ここでは、膿瘍化した病変部の肺胞部分を示した。プレドニゾロンを併用しない CMX のみの治療を行なった 3 時間後の PAS 染色による所見を Fig. 10 に示す。気管支腔内には、なお明瞭に菌体が観察されるが、肺胞部分では、不定形の PAS 陽性物質が認められるのみで、明確な菌体の形態を示すものは認められなかった。したがって、この時点においては、既に肺胞内の細菌が殺菌・溶菌されているが、気管支腔内には、なお正常な形態を保った細菌が残存していることを示している。

III. 考 察

重症感染症に対する副腎皮質ホルモン剤併用の臨床効果、および是非については、古くから種々の報告と論争が展開されている⁴⁻¹⁰⁾。1951 年 SMADEL ら⁵⁾の、腸チフスの治療において、コチゾンの単独もしくはクロラムフェニコールとの併用が熱および全身状態の急速な改善をもたらすと報告以来、重症感染症に対するステロイド併用の報告^{6,7)}が相次いだ。しかし一方において、ス

テロイド剤による副作用も報告され、また、ダブル・ブラインド試験⁸⁾では、ステロイド併用の有効性が証明されず、それ故に、ステロイド併用療法は、多くの議論を呼ぶこととなった。当時用いられたステロイド剤は、コチゾンか、またはハイドロコチゾンが主体であり、今日用いられるステロイド剤と異なり、抗炎症作用のみでなく、鉱質ホルモン作用も強かったことがその一因であろう。しかしながら、ベタメサゾンを用いた KLASTERSKY ら⁹⁾のダブル・ブラインド試験においても、ステロイド併用による救命効果は認められず、ステロイド併用群で初期の解熱と気分の改善を認めたのみと報告されている。彼らの研究は、進行癌に合併した肺炎を主体とする重症感染症で、ステロイド併用群とプラセボ群とは、均一であることを強調している。また、彼らは、ステロイド剤の宿主防御能抑制の副作用による、細菌学的効果の減弱と菌交代が、この有意差なしの原因と述べている。重症感染症に対するステロイド剤の併用効果を認める報告の多くは、個々の症例の精細な観察からその効果を判断したものであり、その判定の多くは、首肯できる。しかしながら、重篤な患者で、各々の条件が非常に異なるため、症例間の比較が困難で、客観性の問題が残る。また、感染症の治療という観点からは、細菌学的効果と臨床効果を明確に把握することが望ましい。この隘路を克服するべく、多くの動物実験が既に報告されている。初期においては、実際に病原体を感染させた動物でステロイド剤の効果が調べられている。本邦においても、勝¹⁰⁻¹²⁾、真下¹³⁾による先駆的研究があり、いずれもステロイド併用を肯定する報告である。勝^{10,11)}の研究は、マウスおよび家兎を用い、肺炎球菌敗血症、肺炎球菌皮内感染、*Streptococcus sanguis* 心内膜炎を作製し、PCG または TC とコチゾンもしくはプレドニゾロンを併用したものである。重症感染の救命という点からは、併用効果が明確とは言いが、犬の黄色ブドウ球菌感染症に対するステロイド投与の影響をも示したうえで、殺菌性抗生物質との併用および慎重な投与を前提に、臨床例でもステロイド剤の有効性を認めている。真下¹³⁾の研究でも、プレドニゾロンの併用により、炎症局所への抗生物質移行が減少するものの、十分な抗生物質と併用するならば、炎症および肉芽形成の抑制が宿主に有意義であろうとしている。当時の動物実験成績^{10-12,15,16)}をみると、ステロイド剤の併用効果は、臨床における有効性を十分に説明しているとは言いがたい。現在の我々の成績から考えると、当時の抗生物質の抗菌力が不十分であったため、重症感染の実験では、ステロイド剤のマイナス効果を充分カバーできなかったものと考えられる¹⁷⁾。ステロイド剤の救命効果を動物実験で明ら

かにしたものに、LEVITIN 系¹⁸⁾によるエンドトキシン注射に対するコーチゾンおよびハイドロコーチゾンの救命効果の報告がある。彼らが用いたのは、*Salmonella typhi* をトリプシン分解した遠心上清で、粗抽出物であるが、注射によるラットの死亡率にドーズ・レスポンスを認め、ステロイド剤の前投与により明確な生存率の増加を認めている。以来現在まで、炎症、および炎症のパラメーター、殊にプロスタグランジンの研究の進歩¹⁹⁾により、ステロイド剤の動物実験は、実際に病原体を感染させるのではなく、化学物質に対する反応の研究が大部分である²⁰⁾。確かにこの方法は、反応の個々の過程を研究するには極めて有効であるが、感染症の化学療法におけるステロイド併用効果は、実際の感染症を場として確認されねばならない。

以上の観点から、まず動物実験モデルの確立を図った。既に報告¹⁴⁾したように、この肺炎桿菌 B-54 株のマウスに対する病原性は、非常に強力がかつ安定している。我々の作製した噴霧吸入感染装置によって、一度に 100 から 150 匹のマウスに、繰り返し、一定の致死性肺炎を作製し得る。また、飼育条件を一定にすることにより、治療開始時間のみで肺内菌数と肺炎病巣の炎症の強さが決まることも、この肺炎モデルの大きな利点である。更に、肺全体を摘出し、肺内菌数を測定する方法と、抗生物質のみによる治癒の条件、治癒過程の特性も既に明らかにしている。そこで今回は、ステロイド剤投与の条件設定から実験を行なった。マウスのステロイド代謝系は人間とは著しく異なり、投与したステロイド剤の効果は、ヒトの場合より遙かに強く、かつ長く続くことはよく知られている²¹⁻²⁴⁾。本実験では、できるだけ臨床例に近づけるために、プレドニゾロンを用い、体重増加曲線および末梢血白血球数に及ぼす効果^{23,24)}から、水性プレドニンの皮下注を選択した。予備実験で、ステロイド剤の効果発現が速やかであり、かつ、24 時間以上にわたって効果が持続すること、および本実験系では、菌の消長が速やかで治療初期の反応で最終的な治療結果が予測可能であることから、今回は、ほとんどの実験で、ステロイド剤は治療開始時に 1 回だけ投与した。同時併用にも成績に示したように、ステロイドの併用効果が認められた。しかし、作用発現に蛋白合成を要するステロイドの作用機作からは、ステロイド剤の前投与も今後検討する必要がある。ただし、臨床において、抗生物質投与以前に、重症感染症患者にステロイド剤のみを単独投与することは、現時点では考え難いことである。

今回の化学療法は、肺の感染病巣中に、起炎菌の MIC を上回る充分な濃度の抗生物質が移行し^{2,3)}、肺内菌数の増加を抑制し得る投与スケジュールで実施した。

この結果、ステロイド剤の併用は、治療初期における肺内生菌数の増減に影響しないことが明白となった。この結論は、治療開始を遅らせて、より重篤な肺炎で治療を行なっても変わらなかった。しかしながら、死に瀕している最重症の肺炎において、抗生物質治療開始初期の死亡率がステロイド剤併用の有無で明らかに異なることが見出された。ステロイド剤を使用せずに抗生物質のみを投与した時のこのショック死ともいうべき急激な死亡は、より殺菌力強い抗生物質を用い、肺内生菌数減少が激しい場合により多く認められる。本実験で用いている肺炎桿菌 B-54 株は厚い莢膜を有するグラム陰性桿菌であり、抗生物質により殺菌、溶菌されれば、エンドトキシンをはじめとする各種の有害物質を放出することが推定される。そこで、化学療法開始後の血中エンドトキシンを測定し、また、肺内細菌の局在と形態を調べ、肺内における溶菌と血中エンドトキシン量の増加が確認された。この成績は、いずれも半定量的なものではあるが、ステロイド併用の有無ではこの二つは差がないようであった。しかしながら、ステロイド非併用群では、出血を伴う病変が併用群よりも広く認められ、組織では、血管周囲の浮腫性病変が増加している。また、炎症のパラメーターとして、3 種のプロスタグランジンを測定し、抗生物質投与後の TXB2 および PGE の増加を確認した。これらのプロスタグランジンの増加は速やかで、抗生物質投与後 1 時間以内ではほぼピークに達しており、治療開始後早期の死亡を充分説明し得るものと考えられる。ステロイド剤の併用により TXB2 の増加は抑制されており、これが今回のステロイド剤併用の救命効果の一部を解明する事実であろう。今回の実験は、最終的には、従来報告されている、エンドトキシン投与の実験と同一の機作に帰するものとも言え、肺組織中への好中球の集簇や血中プロスタグランジンの増加、ショック死などが認められた。しかし、今回の実験における最大の要点は、強力な化学療法によって、この一連の反応が惹起されるということである。現在までまだ少数例ではあるが、殺菌力の優れた第Ⅲ世代セフェム剤を投与した肺炎患者において、血中 TXB2 の増加を認めている。今後、この動物実験系において、FOY をはじめとする蛋白分解酵素阻害剤、非ステロイド抗炎症剤についてもその効果を解析するとともに、臨床例においてより多くの事実から、新しい化学療法理論を導く必要性を痛感する。

稿を終えるにあたり、終始、御指導、御鞭撻戴いた恩師、長崎大学熱帯医学研究所内科、松本慶蔵教授に深甚の謝意を表します。また、本研究は、同僚の、永武毅、原田知行、力富直人、田口幹雄、隆杉正和の各先生をは

じめ、教室の渡辺貴和雄技師、その他の先生たちとの長い共同研究の一端であり、殊に、組織学的研究は、専ら原田知行先生の御尽力によるところであります。心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 穴戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅 士易, 井手政利: 噴霧吸入によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日本胸部疾患学会雑誌 16: 581~588, 1978
- 2) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 穴戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 井手政利, 渡辺貴和雄: 肺炎桿菌性マウス実験肺炎を場とする Cefazolin による化学療法 の 解析。Chemotherapy 27: 109~115, 1979
- 3) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 穴戸春美, 渡辺貴和雄: 実験肺炎治療過程における 3 相性肺内生菌数減少パターン。Chemotherapy 27: 801~806, 1979
- 4) 宇塚良夫, 永武 毅, 松本慶蔵, 穴戸春美, 力富直人, 渡辺貴和雄: 実験肺炎を場とする CEZ-GM 併用療法 の 解析, GM 少量併用の効果の確認。Chemotherapy 28: 809~815, 1980
- 5) SMADEL, J. E.; H. L. LEY, JR. F. H. DIERCKS: Treatment of typhoid fever. I. Combined therapy with cortisone and chloramphenicol. Ann. Int. Med. 34: 1~9, 1951
- 6) WOODWARD, T. E.; H. E. HALL, R. DIAS-RIVERA, J. A. HIGHTOWER, E. MARTINEZ & R. T. PARKER: Treatment of typhoid fever. II. Control of clinical manifestations with cortisone. Ann. Int. Med. 34: 10~19, 1951
- 7) KASS, E. H. & M. FINLAND: Adrenocortical hormones and the management of infection. Annu. Rev. Med. 8: 1~18, 1957
- 8) KASS, E. H., et al. (Cooperative Study Group): The effectiveness of hydro-cortisone in the management of severe infections. J. A. M. A. 183: 462~465, 1963
- 9) KLASTERSKY, J.; R. CAPPEL & L. DEBUSSCHER: Effectiveness of betamethasone in management of severe infections. A double-blind study. New Engl. J. Med. 284: 1248~1250, 1971
- 10) 勝 正孝: 感染症に対する副腎ステロイドと抗生剤の併用。Chemotherapy 6: 265~273, 1958
- 11) 勝 正孝: 感染症の副腎皮質ホルモン療法一副作用及び, 二, 三の検討一。日本伝染病学会雑誌 35: 52~70, 1961
- 12) 勝 正孝, 東 冬彦: 副腎皮質ホルモン療法。新内科学大系, 感染症 Ib, 38~53 頁, 中山書店, 1976
- 13) 真下啓明: 抗生物質・抗炎症ホルモン併用の意義。Chemotherapy 6: 259~264, 1958
- 14) 大久保 晃, 藤本安男: 呼吸器感染症と副腎ホルモン。日本胸部疾患学会雑誌 3: 32~34, 1965
- 15) ROBSON, H. G. & L. E. CLUFF: Experimental pneumococcal and staphylococcal sepsis: effects of hydrocortisone and phenoxybenzamine upon mortality rates. J. Clin. Invest. 45: 1421~1432, 1966
- 16) KLASTERSKY, J. & E. H. KASS: Effect of suppression of fever on mortality rate in experimental pneumococcal sepsis. Clin. Res. 17: 370, 1969
- 17) SKORNIK, W. A. & M. S. DONALD: The effects of short-term steroid therapy on lung bacterial clearance and survival in rats. Ann. Surg. 179: 415~421, 1974
- 18) LEVITIN, H.; M. I. KENDRICK & E. H. KASS: Effect of route of administration on protective action of corticosterone and cortialol against endotoxin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 93: 307~309, 1956
- 19) 丹羽朝貞, 横山三男: 炎症のパラメータ。炎症 1: 481~492, 1981
- 20) CHANG, J. C. & M. LESSER: Quantitation of leukocytes in bronchoalveolar lavage samples from rats after intravascular injection of endotoxin. Am. Rev. Respir. Dis. 129: 72~75, 1984
- 21) PETERS, W. P.; J. F. HOLLAND, H. SENN, W. RHOMBERG & BANERJEE: Corticosteroid administration and localized leukocyte mobilization in man. New Engl. J. Med. 282: 342~345, 1972
- 22) LECLERCQ, R. & G. COPINSCHI: Pattern of plasma levels of prednisolone after oral administration in man. J. Pharmaco-Kinet. Biopharmaceut. 2: 175~187, 1974
- 23) DALE, D. C.; A. S. FAUCI & S. M. WOLF: Alternate-day prednisone. Leukocyte kinetics and susceptibility to infections. New Engl. J. Med. 291: 1154~1158, 1974
- 24) FAUCI, A. S. & D. C. DALE: Alternate-day prednisone therapy and human lymphocyte subpopulations. J. Clin. Invest. 55: 22~32, 1975

EXPERIMENTAL ANALYSIS OF LIFESAVING EFFECT
OF PREDNISOLONE-ANTIBIOTICS COMBINATION
THERAPY FOR FATAL MURINE PNEUMONIA
DUE TO *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

YOSHIO UZUKA

The Department of Internal Medicine, Institute for
Tropical Medicine, Nagasaki University
(12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852 Japan)

The combined effects of prednisolone and antibiotics on very severe pneumonia have been studied, utilizing our experimental model of fatal murine pneumonia due to *Klebsiella pneumoniae* B-54 strain. In this study, sudden deaths shortly after the administration of effective antibiotics were frequently observed and prednisolone decreased the sudden death.

As reported in our previous papers [Chemotherapy 27 : 109~115 & 801~806, 1979], in each experiment, 100 to 150 mice infected with 500 LD₅₀ of *Klebsiella pneumoniae* B-54 (LD₅₀ ; 9.7×10 CFU/mouse) were treated by subcutaneous injections of cefazolin (MIC ; 1.56 µg/ml), cefmenoxime (MIC ; 0.013 µg/ml), gentamicin (MIC ; 0.39 µg/ml), and some other antibiotics. Sudden deaths shortly after the start of antibiotic therapy were observed more frequently in the group injected more active and effective antibiotics, such as cefmenoxime and/or gentamicin than in the group injected cefazolin. And the combined therapy of prednisolone (1 to 10 mg/kg) with cefmenoxime and/or gentamicin decreased these sudden deaths. Histological and bacteriological studies revealed rapid destruction of bacterial cells in lung and increase of perivascular edema after antibiotic administration. Within one hour after antibiotic administration, endotoxin and prostaglandins, especially thromboxan B2 in plasma increased. Combination therapy with prednisolone suppressed the increase of thromboxan B2 and perivascular edema, but did not suppress bacterial killing and increase of endotoxin in plasma.

From these results, powerful and effective antibiotic therapy for severe bacterial infections might bring about unexpected results. Therefore, the preventive measures are necessary to treat severe bacterial infections with antibiotics in order to protect from undesirable responses due to rapid destruction of bacterial cells in tissue.