

## 資料

## 肺の細菌清掃作用に及ぼす環境ストレスの影響について\*

Stanley E. Curtis\*\*

訳：井本精一\*\*\*

## はじめに

アメリカ中西部地方における豚の慢性肺炎の発生率は、全飼育数の 1/3 から 3/4 と算定され、なお増加する傾向にある。豚の慢性肺炎罹患による損耗は莫大なものである<sup>1)</sup>。

## 1) 肺における微生物病原体

肺は内臓の中でも、外部環境にさらされているという点で特異的である。必然的に広大な呼吸交換表面は、大気と密接に接触する。豚の周囲の空気は汚染物質を含んでおり、これは外来物質または過剰な空気本来の成分であったり、微粒子状物またはガス状物、無機物または有機物、生物または無生物、有毒物または化学的不活性物であったりする。動物の呼吸過程で、空気から粒子が除かれることを沈着 (deposition) という。微生物を含んでいる微粒子状汚染物質の連続的な肺内沈着にもかかわらず、正常な肺は無菌状態である<sup>2)</sup>。

肺の清掃作用は、沈着した微生物粒子あるいは無生物粒子が殺されるか、肺から除去される過程であり、あるいはまたこの両者を含んだものである。このように肺の清掃作用は二種類の機構から成っている。すなわち一方は微生物を殺す機構、他方は無生物粒子を肺から除去する機構である。微生物を殺す機構には、肺胞大食細胞が主として関与している<sup>3)</sup>。沈着した無生

物粒子と貧食作用によって不活化された微生物は、主として気管支粘膜の繊毛やリンパ管排出路によって、肺から除去される<sup>4,5)</sup>。もし、肺の防御機構の最前線である細菌清掃作用が失敗に終わった場合、沈着した微生物病原体は肺の組織内で増殖し、結果として肺炎発生の可能性がある<sup>6,7)</sup>。

## 2) Jericho の問い

数年前、Jericho<sup>8)</sup>は次のように述べている。すなわち、「“肺の細菌清掃作用”を障害するものとして、どのような要因が知られているか。この重量な問いに対する情報は現在、非常に限られていて、しかも豚に対して利用できるものは一つもない」さらに「総括的には次のように述べられよう。すなわち、肺組織内で再び増殖してくる病原微生物の病因学的意義は、すべての関連した生理学的、環境的な影響についての評価がなされた後でのみ確定される」そして最後に「豚の肺炎病理発生に関して最も重量で緊急な研究が、豚集団における感染性、非感染性で肺への障害物質の発生に関する検討であり、さらに極低濃度物質に長期間さらされる場合も含めて、種々の環境条件下で豚の肺に対するこれら障害物質と病原性物質との相対性を決定することである<sup>9)</sup>」と。

Jericho の問いに答えるべく、ここでわれわれは豚の肺の細菌清掃作用に及ぼす環境ストレ

\* この報告のもととなった研究は、Joseph Simon (獣医病理衛生学科)、Duane Kingdon, John Drummond, Vickie Meares, Aldon H. Jensen (畜産学科) との協力で行われた。その成績は、別途発表された。

\*\* イリノイ大学畜産学科

\*\*\* 千葉県養豚試験場

スの効果を求めようと思う。彼の問いは次の理由で適切なものと考えた。④ 実験室の齧歯類において、種々のストレスが肺の細菌清掃作用を障害するのでみられること。⑤ 豚慢性肺炎の広範な発生。⑥ 養豚の現場における豚に対する環境ストレスの存在。⑦ 豚肉生産者および開業獣医師の間に、環境ストレスは豚に肺炎の素因を与えているという考えが広く存在すること。以下は、われわれの興味をそそった基礎的情報のいくつかである。

### 3) Laurenzi の方法論

10年前 Laurenzi とその協同研究者らは、マウスの肺の細菌清掃作用を定量的に調べるために開発したテクニックについて報じた<sup>2)</sup>。この方法論は、後にラット<sup>10)</sup>と子牛<sup>11)</sup>に応用された。それは本質的に次の三つの部分から成っている。① 小室 (chamber) の中に動物を入れる (約 10~30 分間)。この小室に細菌懸濁液を噴霧注入する。細菌を含んでいる空中小滴あるいは小滴核は、肺に沈着できる大きさである (気体力学的に直径 5  $\mu\text{m}$  未満<sup>12)</sup>)。② 負荷期 (動物を細菌噴霧液に暴露する期間) のすぐ後に、何頭かの試験動物の肺内細菌濃度を求める。そして③ 残りの動物を清掃期として約 2~4 時間、他の環境に保持する。その後、肺内の細菌濃度を決定する。このようにして、負荷期間中に肺に沈着した細菌と、清掃期間中に肺から清掃された細菌との比率を平均で求めることが可能である。

その結果は予想どおりのものであった。すなわち肺の清掃率は、宿主として同一の動物種を用いても、細菌の種や株間で異なるし<sup>10,13,14)</sup>、また同一の細菌株に対しても、肺の清掃率は宿主間で異なる<sup>10,11)</sup>。

また、ある宿主動物の肺からの細菌清掃率は数多くの要因によって減少することも認められた。呼吸器系にウイルス感染が存在する場合、肺の細菌清掃作用は非常に障害され、その効果に対しては、ウイルス感染開始時期と細菌攻撃との時間的間隔が最重要要因であった<sup>7,15)</sup>。急性腎不全も、また宿主動物の肺の細菌清掃能力

を減少させた<sup>16)</sup>。これはおそらく急性腎不全の結果として生じた代謝性アシドーシスによるものと思われた<sup>17)</sup>。さらに急性腎不全を引き起こして、宿主動物の肺の細菌清掃能力を減少させた場合、宿主動物の肺に特定病原細菌による感染の成立がみられた<sup>18)</sup>。最後に、動物を低酸素症、エタノール中毒、コーチゾン注射、飢餓、あるいは寒冷ストレスの状態におくと、その肺の細菌清掃能力が障害されるという知見が得られた<sup>13,19)</sup>。

これらの成績から、少なくとも実験室齧歯類においては、肺の細菌防御作用は種々の条件によって悪影響を受けることが判明した。しかし豚に関しては、まだ問題が残っている。すなわち、どんな環境的要因が豚の肺の細菌清掃作用を障害するのか。換言すれば、どのような環境的要因が豚の肺炎防御作用を減少させるのか。

### 方法および成績

まずさしあたってわれわれは、Laurenzi のテクニック<sup>2)</sup>を子豚に応用した。われわれが用いたのは、持ち運び可能な流動空気を使用する空気汚染物質暴露用小室 (暴露容積 0.69 m<sup>3</sup> 立方) で、その中には完全に沪過された空気が毎分 0.47 m<sup>3</sup> の割合で送りこまれた。トリプトースブイヨン中に培養された非病原性 *Escherichia coli* を遠沈し、一度洗浄し、クレープス・リンガー燐酸緩衝液中に再浮遊した。この懸濁液をエアロゾル化し、暴露小室に入る空気に混じた。その時使用した噴霧器は、Devilbiss model 40 でロータリーポンプからの圧縮空気を利用するものであった。

負荷期が終ると、豚をエアロゾル暴露小室から出し、もしその時、初期の負荷レベルを知るためにと殺するのでなければ、豚をコントロール小室あるいは実験小室に移し、清掃期間中そこに保持した。実験の必要に応じて、負荷期あるいは清掃期の後、経時的に豚をと殺し、細菌汚染を極力少なくするよう注意しつつ肺を取り出した。肺組織の一部は、組織学的検査に供された。残りの肺は重量を計り、緩衝液中でホモゲナイズし、適当に希釈した後、牛心臓浸出液

表1

齢 (日)	負荷期直後にと殺した豚の肺 1g当りの細菌コロニー数	清掃期(3時間)後の細菌コロニー数 (初期濃度に対するパーセント)	
		常 温	5℃
1	$1.7 \times 10^5$	35	207
6	$3.6 \times 10^4$	21	28
18	$6.2 \times 10^4$	5	8
26	$9.6 \times 10^3$	4	4

寒天に接種した。平板を 37°C, 18 時間培養し、コロニー数を数え、常法どおりに細菌濃度の計算を行った。

第一回目の実験は 56 頭の豚を用い、実験変量を清掃期間中の環境温(常温と 5°C)と試験時齢(1, 6, 18, 26 日齢)とした 2×4 要因配置法で行った。その結果、環境温も齢も豚肺からの非病原性 *E. coli* の清掃作用に影響を与えることがわかった。肺の細菌清掃能力は齢とともに上昇し、また寒冷ストレスによって障害された。とくに 1 日齢の子豚では、寒冷ストレスを与えた「清掃期間中」に、細菌濃度は 2 倍にもなった(表1)。この時の試験では、同じ日齢内で同腹豚を異なる環境温度間で比較したが、同腹豚を用いた日齢間での比較は試みられなかった。それでその後の試験の中でそれを行った結果、齢効果は異なった腹間におけると同様、同腹豚内でみられた。この時の試験でも若齢豚は、同じ時間細菌攻撃にさらされた場合、より齢の高い豚に比較して、より高い肺内初期細菌濃度を持つ傾向があることが確認された。

第二回目の実験では、96 頭の 2 週齢の豚を用い、その時の実験変量は、空気中のアンモニア(50 ppm)とした。このアンモニアにさらされた子豚は、2 時間の清掃期間の後、対照豚と比較して有意に高い肺内細菌濃度を示した。すなわち肺 1g 中の細菌コロニー数は、 $4.5 \times 10^4$  :  $3.0 \times 10^4$  であった。

最後に一言すれば、われわれは Jericho の問いに対して、ある程度答えることができた。結論として、豚も実験室齧歯類と同様であると言える。すなわち環境ストレスは豚肺の細菌清掃機構に有害な影響を与えよう。今後の

実験では、特定の病原微生物、混合感染、ガス状および微粒子状空気汚染物質によるストレス、そして寒冷環境によるストレスを問題としてとりあげたい。

## 文 献

- Huhn, R. G. : Amer. J. Vet. Res., **31**, 1097 (1970)
- Laurenzi, G. A. et al. : J. Clin. Invest., **43**, 759 (1964)
- Green, G. M. and Kass, E. H. : J. Exp. Med., **119**, 167 (1964)
- Heppleston, A. G. : Amer. J. Path., **42**, 119 (1963)
- Courtice, F. C. : Brit. Med. Bull., **19**, 76 (1963)
- Gross, P. : Arch. Env. Health, **14**, 883 (1967)
- Kass, E. H. et al. : Bact. Rev., **30**, 488 (1966)
- Jericho, K. W. F. : Vet. Rec., **82**, 507 (1968)
- Bates, D. V. : Amer. Rev. Resp. Dis., **93** (補遺), 182 (1966)
- Southern, P. M. et al. : Appl. Microbiol., **21**, 377 (1971)
- Lillie, I. E. and Thomson, R. G. : Can. J. Comp. Med., **36**, 129 (1972)
- Hatch, T. F. and Gross, P. : Pulmonary Deposition and Retention of Inhaled Aerosols. Academic Press, New York (1964)
- Green, G. M. and Kass, E. H. : Brit. J. Exp. Path., **46**, 360 (1965)
- Jackson, A. E. et al. : J. Lab. Clin. Med., **69**, 833 (1967)

- 15) Sellers, T.F. et al. : J. Exp. Med., **114**, 237 (1961)
- 16) Goldstein, E. and Green, G.M. : J. Lab. Clin. Med., **68**, 531 (1966)
- 17) Goldstein, E. et al. : J. Lab. Clin. Med., **75**, 912 (1970)
- 18) Goldstein, E. and Green, G.M. : J. Bact., **93**, 165 (1967)
- 19) Green, G. M. and Kass, E. H. : J. Clin. Invest., **43**, 769 (1964)
- 20) Hinners, R.G. et al. : Arch. Env. Health, **16**, 194 (1968)