

第30回日本化学療法学会東日本支部総会

第32回日本感染症学会東日本地方会総会

共 催

会期：昭和58年11月10～11日

会場：九段会館

会長：中谷林太郎（日本感染症学会 東京医科歯科大学医学部教授）

坂 部 孝（日本化学療法学会 日本大学医学部教授）

## 招待講演

Cationic antimicrobial proteins (CAP) :  
antibiotic-like mediators in oxygen  
independent antimicrobial actions  
of neutrophils

JOHN K. SPITZNAGEL, M.D.

Professor and Chairman

Microbiology and Immunology, Emory University,  
Atlanta

Neutrophil polymorphonuclear leukocytes (PMN) have antimicrobial mechanisms that require  $O_2$ . They also have antimicrobial mechanisms that are independent of  $O_2$ . The oxygen independent mechanisms are the subject of this paper. They involve several proteins associated with the cytoplasmic granules of PMN including CAP that lack demonstrated enzyme action and other cationic proteins such as neutral proteases, lysosomal hydrolases. Besides these proteins, hydrogen ion concentration, fatty acids and complement components all may enhance the intra-leukocytic antimicrobial action of PMN.

Many years ago, Petterson extracted very cationic proteins from human pus. He found they were antibacterial. Shafer, working in my laboratory, has now shown that PMN granules have at least 2 CAP. One is 57 kilodaltons, rich in lysine, and very hydrophobic. In concentrations of  $10^{-12}$  molar it kills an Re mutant of *Salmonella typhimurium*. The other CAP is 37 kilodaltons, rich in arginine, and very hydrophobic. It kills this *Salmonella* in concentrations of  $10^{-10}$  molar. These concentrations of the CAP are readily achievable in the phagocytic vesicles of PMN. Both proteins kill gonococci. They appear similar to the bacterial permeability inducing factor (BPI) of Weiss

and Elsbach and the valley AB proteins of Modrzakowski and Spitznagel. Both proteins bind to *Salmonella* with ionic and hydrophobic forces. The ionic binding according to Shafer is dependent on unsubstituted phosphoryl substituents of the  $\beta$ -1, 6-linked D-glucosamine disaccharides of the Lipid A moieties in endotoxic lipopolysaccharide (LPS). The hydrophobic binding is inferred from the greater antimicrobial action of the CAP against rough *Salmonella* compared to smooth *Salmonella* but its molecular basis remains to be demonstrated. It seems likely to involve the fatty acids of Lipid A, hydrophobic outer membrane proteins, or both.

Both the 57 kd and the 37 kd CAP are associated with granules that cosediment in sucrose density gradients with the azurophil granules of PMN. These granules degranulate early during phagocytosis of bacteria or yeast depositing their contents about these particles. Monoclonal antibodies prepared in our laboratory enabled us to locate these proteins in PMN granules. They can also be used to detect, measure and compare the amounts of these proteins in normal and abnormal human PMN. PMN deficient in one or both of these CAP could be useful in studies of the role of the CAPs in PMN function.

What evidence says that these CAPs actually kill phagocytized bacteria? For one thing the purified proteins kill *Salmonella* under anaerobic conditions as well as they do under aerobic conditions. So do the azurophil granule proteins from which they are derived. Resistance of *Salmonella typhimurium* LT2 and its outer membrane mutants to the CAPs is proportional to the length of the bacterial LPS polysaccharide chains. Thus smooth *S. typhimurium* are more resistant than are their rough mutants. Deep rough mutants are least resistant. Noboru Okamura

showed that the *Salmonella* LT2 and its mutants were phagocytized by anaerobic human PMN but they resisted intraleukocytic killing in the same ordered fashion that they resisted the CAP. PMN of CGD patients kill *Salmonella* and gonococci as readily as do normal PMN. Since PMN of CGD patients lack  $O_2$  dependent killing it may be inferred that they kill them by oxygen independent mechanisms.

We have shown that human PMN have at least 2 azurophil granule associated cationic proteins one of 57 kd and one of 37 kd with potent antimicrobial activity resembling that of Polymyxin B. These proteins could have a role in oxygen independent action of human PMN.

## 特別講演

### 宿主側から見た感染症治療に関する

#### 二、三のサジェスション

大 沢 伸 昭

東京大学第三内科

#### 1. はじめに

感染症の病態は、病原性微生物と宿主の防御系機能の状態により決定される。感染症の治療において、感染症の原因となる病原性微生物に対しては、抗生物質を始めとする優れた治療剤があり、現在治療法として中核の位置を占めているが、日和見感染などにみられる宿主の防御機構の低下に対する対策には、現在のところ、十分に評価しうるものが少なく、感染症治療における今後の問題として大きく残されている。

ここでは、細菌感染を中心として、主として宿主側の防御機構を高めることにより、感染症の治療に有効な対策が生まれうるか否かにつき、いくつかの問題をあげて検討したいと考える。

#### 2. CSF (Colony stimulating factor)

感染防御系の一つは血球、特に白血球であり、骨髄系的好中球、マクロファージとリンパ系のTおよびBリンパ球とが含まれる。これらの白血球は、多分化能を有する骨髄の幹細胞から、骨髄系およびリンパ系の幹細胞を経て、各種の白血球への分化が方向づけられた前駆細胞に分化し、これが更にそれぞれの造血因子によって成熟した白血球に誘導される。このような、白血球の増殖、分化、機能調節の状態は感染症において極めて重要な意義を有している。中でも、造血因子は、それが固定され、治療剤として臨床に応用が可能となれば、各種の白

血球を増加せしめ、機能を高めることにより、感染防御機能を充進せしめることにより、感染症治療に有効手段となりうる可能性を有している。

好中球およびマクロファージの造血因子は、GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor) と呼ばれ、好中球およびマクロファージの増加および分化誘導を司るものである。もし、この CSF が製剤として、患者に投与され、好中球あるいはマクロファージの数を増加せしめ、しかもそれらの血球が十分に分化し、機能を保持しているとする、細菌感染に対する抵抗性を高めると共に、抗生物質の効果が少なくなった感染症、例えば日和見感染や老年者の感染症の治療に新しい展開を開く可能性がある。ただ、これまで、CSF に関してはその本態が必ずしも十分に明らかでなく、十分に解析しうる量を得ることが困難であった。

我々は、1976 年、異所性に GM-CSF を産生する肺癌 (CSF 産生腫瘍) を初めて発見した。この発見には、ヌードマウスへの移植が極めて有用であって、CSF 産生腫瘍 (OTUK 株) を移植されたヌードマウスの末梢血中白血球数は正常値 3,000~5,000/cmm から 300,000~500,000/cmm と著増し、しかも、その殆どが十分に分化した好中球であった。そこで、この CSF 産生腫瘍を材料として、ヒト CSF に関する解析を行ない、その粗抽出物中に CSF が 2 種類含まれていること、一つは G-CSF と考えられるもので、granulopoiesis を促進する分子量 3 万前後の糖蛋白であることが明らかにされた。もう一つは M-CSF と考えられるもので、分子量が更に大きい糖蛋白であり、おそらくマクロファージの増殖分化を促進すると思われるが、現在それ以上の解析は進められていない。G-CSF の性質が明らかとなったので、これが果してヒトにおける白血球増加剤として臨床応用が可能になるか否かについて検討を始めた。具体的な目標としては、白血球減少症の治療、および感染症の治療であった。

このためには充分量のヒト CSF が必要であるため、CSF 産生腫瘍の細胞培養株の確立を試み、3 種類が得られ、その培養液中に CSF が証明された。次いで、CSF を大量に得るために、それらの細胞株の大量培養系の確立を試み、回転培養法による系が得られ、その培養液を用いてある程度精製されたヒト CSF が大量に得られるようになった。

この CSF 製剤を用いて、その *in vivo* 効果が検定された。ヌードマウスあるいはヌードラットを用いて、これを連日投与、あるいは持続注入を行なうと数日の潜伏期において、末梢血好中球の著増するのが認められ、かつ増加した好中球は充分な機能を有していることが示さ

れた。これにより、CSF 製剤の *in vivo* 効果が確認された。このように人為的に白血球を増加せしめた状態が、細菌感染、特に日和見感染に対し有効な治療手段となりうるか否かについては、現在検討中であるが、このような感染実験に適した実験動物系が充分でないのが現状であり、その開発の重要性が痛感される。

CSF 製剤の白血球減少に対する治療効果についても検討中であるが、これに関連してヌードマウスに制癌剤 (Busulfan) を投与して白血球減少をおこした状態に、CSF 産生腫瘍を移植すると、腫瘍から分泌される CSF により、著明な改善が認められたことから、CSF 製剤投与によっても同様な効果が得られることが想定される。

このような成績をもとに、ヒトにおける CSF の *in vivo* 効果を得るに必要な量を推算してみると、1日数千万単位、連日 7~10 日投与の必要があると思われる。このような大量を得る方法としては、遺伝子工学を応用することが有用と考えられ、現在、この CSF 産生腫瘍株を用いて、CSF の m-KNA の検出、DNA のクローニングなどの研究が進められている。

以上の成績は、感染症対策の一つとして、CSF 療法が成立する可能性を示唆するものであるが、これが実際に臨床に應用されるまでにはなお相当の年月が必要と思われる。

### 3. 胸腺液性因子

先天的に胸腺を欠損するヌードマウスに感染がおり易く、胸腺を移植すると免疫能が正常化して、感染に対する抵抗性も正常化するところからみて、感染防御における胸腺の意義は大きいものがある。胸腺における T リンパ球の増殖と分化に関しては、その調節因子として胸腺液性因子の存在が従来から検討されて来たが、現在、治療剤としての検討が進んでいるのは、サイモシン  $\alpha_1$ 、STF (血清胸腺因子) およびサイモポエチン II である。いずれも T 細胞を増加せしめ、機能を調節することを目的としており、感染症特に日和見感染の治療の他、真菌症、ウイルス疾患などへの効果が検討されている。サイモシン  $\alpha_1$  は、インターフェロン誘導作用があるといわれている。これらのうち、サイモシン  $\alpha_1$  はすでに米国において臨床治験が開始されている。

我々は現在 STF について検討を行なっているが、STF の radioimmunoassay が完成して分析が進んだ結果、ヌードマウスの血中にも immunoreactive STF が正常マウスと同程度に証明されるところから、STF に関するこれまでの成績の再検討が必要となっている。最近の成績では、STF には分子量の大きな前駆体蛋白があり、おそらく肝で生合成、血中に放出され、胸腺にお

いて STF が遊離される可能性が考えられている。STF は、実験的アレルギー性脳炎に対し有効であるとの報告もあり、これは STF が、自己免疫性疾患の治療剤としての意義を有する可能性を示唆するが、同時にこの成績は半減期の短いペプチド製剤でも *in vivo* 効果を発揮しうることを意味するものである。このことは、STF が感染症、特に日和見感染などに対する治療剤として検討してゆく上で重要であると思われる。

いずれにしても、種々の胸腺因子が合成され、大量に得られるようになった現在、感染症治療における有用性の検討が可能となって来ているが、ただ、それを評価するための実験動物系が充分でないのが問題として残されている。

### 4. おわりに

宿主の感染防御系にはその他にも多くの系があり、また下垂体-副腎皮質系 (ステロイド) のように、生体内の炎症機構も存在するので、これらを総合して判断し、宿主側からの感染症治療をどのようにしたらよいかについて検討を加える必要がある。

その際、特に臨床応用できる可能性のある物質あるいは薬剤の研究が必要であるが、ここでは我々が検討しつつある CSF、STF を例に、その具体的な可能性について述べた。

## シンポジウム

### 嫌気性菌感染症の諸問題 —発症機序と病原性—

司会のことは

小 酒 井 望

順天堂浦安病院

嫌気性菌感染のうち、今日多く見られる無芽胞嫌気性菌による感染が、わが国で注目されるようになって既に 20 年近くなる。日和見感染の増加とともに嫌気性菌感染が増加したこと、また嫌気性環境の作成をはじめとして嫌気性菌検査の簡易化が進み、日常検査として広く行なわれるようになったことで、嫌気性菌感染が注目されるようになった。そして各種感染症からの嫌気性菌の分離状況、菌属、菌種の鑑別・同定、および抗菌薬感受性などについての研究報告が、著しく増加した。これらの研究、即ち分離率、薬剤感受性などの調査研究は、嫌気性菌感染研究の第 1 期というべきもので、われわれは嫌気性菌の病原性、発症機序といういわば第 2 期の研究へ進むべき時期に来ていると考えなければならない。この第 2 期の研究の窓口を開くべく企画されたのがこのソ

ポジウムである。

## 嫌気性菌感染症の諸問題—発症機序と病原性

小 酒 井 望

順天堂浦安病院

中 山 一 誠

日本大学第三外科

嫌気性菌感染症の諸問題、特にその発症機序と病原性の問題を考えた場合、先ず第一には検査の進歩と普及であろう。第二段階として発症機序や病原性を考えることができる。

発症機序に関しては基礎および臨床の各演者の発表をまとめてみると、Weinstein, Gorbach, Bartlettらの提唱した二相性感染 (Biphasic infection), あるいは二相性理論 (Biphasic theory) が確立された感がある。特に感染モデルでは嫌気性菌が Superoxide dismutase および Catalase を有することが感染の成立および病原性とも関連し、また二相性感染の急性炎症期の主役である好気性菌の Superoxide dismutase 活性の有無あるいは強弱が嫌気性菌感染発症に大きな役割を演じている。すなわち感染成立には病巣の酸化還元電位の低下が必須となる。

これを臨床的立場よりみても菌血症、肝・胆道感染症、腹腔内感染症においても、嫌気性菌、好気性菌による複数菌感染症の頻度が高く、基礎実験の裏づけとなっている。治療に関しては当然のことながら嫌気・好気両菌に対して抗菌スペクトルを有する薬剤が選択される。一方、腸管無菌法に関しては、Tobramycin と Metronidazole の併用が優れているとの報告である。

今後の問題としては胆道感染症における嫌気性菌の由来、腸管内における *B. fragilis* の病原性あるいは *Bacteroides* group でも Endotoxin 所有の有無とその臨床的意義などが山積している。

### 1. 嫌気性菌菌血症における発症機序

島 田 馨・稲松 孝思

東京都養育院附属病院感染科

我々の経験した嫌気性菌菌血症症例の解析を通じて、その発症機序について考察を加えた。

昭和 47 年以降の 11 年間に東京都養育院附属病院において 792 例の菌血症を経験した。このうち 71 症例 (9.0%) は嫌気性菌のみが分離され、43 症例 (5.4%) は嫌気性菌と好気性菌が同時に分離された症例である。合わせて、14.4% の菌血症例で嫌気性菌が分離された。

血液から分離された嫌気性菌 125 株の内訳は、*Bac-*

*teroides fragilis* 44 株, *Bacteroides thetaiotaomicron* 8 株, その他の嫌気性グラム陰性桿菌 5 株, *Clostridium perfringens* 30 株, その他の *Clostridium* 9 株, *Peptococcus* 20 株, *Peptostreptococcus* 8 株であった。臨床像から菌血症の原発感染巣を推定すると、褥瘡感染由来 30 例 (28.0%), 肝・胆道感染 26 例 (24.3%), 肝・胆道感染以外の腹膜炎 12 例 (11.2%) であった。原発感染巣不明例は 39 例 (36.4%) であるが、そのうち約 2/3 の例は複数の感染巣を有するため原発感染巣を特定できず、1/3 の例では明らかな原発感染巣を見出せなかった。*Bacteroides* 検出例ではほとんどの症例で原発感染巣を推定でき、褥瘡>肝・胆道感染>腹膜炎の順であった。*Clostridium* 検出例では 42 例中 26 例と、原発感染巣不明例が多かった。

褥瘡由来嫌気性菌菌血症の発症機序を検討する目的で、好気性菌、嫌気性菌を含めた褥瘡由来菌血症例のうち、血液培養陽性時の褥瘡菌叢を培養し得た 22 症例 24 エピソードについて検討を行なった。これらの症例の血液培養にて 41 株の細菌が検出された。その内訳は、*Bacteroides* 15 株, *Proteus* 7 株 (indole (-) 5 株, indole (+) 2 株), 嫌気性グラム陽性球菌 6 株 (*Peptococcus* 5 株, *Peptostreptococcus* 1 株), 黄色ブドウ球菌 5 株, 腸球菌 4 株, 緑膿菌, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Acinetobacter* 各 1 株であり、分離菌株の 53.7% は嫌気性菌であった。好気性菌のみの分離例は 10 例、好気性菌と嫌気性菌の同時検出例は 6 例、嫌気性菌のみの検出例は 8 例であり、58.3% の症例で嫌気性菌が分離されていた。41.7% の症例は複数菌菌血症例であった。

これら 22 症例の菌血症を確認した時期の褥瘡 24 検体と、それ以外の時期の褥瘡 48 検体について、褥瘡菌叢の比較を行なった。菌血症期の褥瘡からは 1 褥瘡当好気性菌 3.0 株、嫌気性菌 1.4 株、合わせて  $4.4 \pm 1.2$  株の菌種が分離された。また、70.8% の検体で嫌気性菌が分離された。一方、非菌血症期の褥瘡からは、好気性菌 2.7 株、嫌気性菌 0.6 株、合わせて  $3.3 \pm 1.9$  株の菌種が分離された。また、嫌気性菌は 33.3% の検体から分離された。これを菌種別にみると、菌血症期の褥瘡では、緑膿菌、腸球菌は各々 15 検体 (62.5%) から検出、*Proteus* は 13 検体 (54.2%) から 14 株検出、黄色ブドウ菌は 9 検体 (37.5%) から検出、*Klebsiella*, *E. coli* は各々 5 検体 (20.8%) から検出、*Bacteroides* は 15 検体 (62.5%) から 22 株検出、嫌気性グラム陽性球菌は 8 検体 (33.3%) から 11 株検出された。一方、非菌血症期の褥瘡 48 検体では、緑膿菌は 26 検体 (54.2%) から検出、腸球菌は 25 検体 (52.1%) から検出、*Staph.*

epider は9検体 (18.8%) から検出, *Proteus* は15検体 (31.3%) から17株検出, *E. coli* は7検体 (14.6%), *Klebsiella* は5検体 (10.4%) から検出, *Bacteroides* は12検体 (25%) から18株検出, 嫌気性グラム陽性球菌は9検体 (18.8%) から9株検出された。また, 菌血症発症時期の褥瘡はいずれも皮下膿瘍や, 皮下深部からの排膿がみられる例であった。

伊藤は, 褥瘡の経過を重症度別に3期に分け褥瘡菌叢の比較を行なっている。軽症例では分離菌種数は少なく, 黄色ブドウ球菌, *Corynebacterium*, 表皮ブドウ球菌などの分離されることが多いが, 重症例では分離菌種数は増し, 嫌気性菌検出率が高まることを報告している。また, Galpin は, 褥瘡由来菌血症で, 嫌気性菌検出例が多く, 治療上, 切開排膿が有力な手段であることを述べている。これらのことを考えあわせると, 褥瘡感染の経過は, 好気性菌により始まり, 重症化するとともに嫌気性菌が関与するようになり, 皮下膿瘍の形成とともに, 嫌気性菌, *Proteus*, 黄色ブドウ球菌などの菌血症をおこし易いといえよう。また, 褥瘡の悪化, 菌血症発症に嫌気性菌, 殊に *Bacteroides* の膿瘍形成能が大きな役割を果たしているものと思われる。

血液培養により *Clostridium* の分離された42症例の侵入門戸を臨床像から推定すると, 26例 (62%) の症例では侵入門戸不明であった。このうち21例は *Clostridium* 単独検出例であり, 3例では同時に *Corynebacterium*, 表皮ブドウ球菌などの皮膚常在菌が検出された。また, 入院中の高齢患者24症例について, 鼠径部皮膚の常在菌叢を, 嫌気性菌を中心に検討した。鼠径部皮膚を消毒することなく, 湿らせたスワブにて擦過し, GM 添加 GAM 寒天培地, Phenylethylalcohol 添加血液寒天培地を用いた嫌気培養, GAM ブロースを用いた増菌培養を行なった。24例中4例 (16.7%) から, *Clostridium perfringens* が分離されたが, *Bacteroides* は検出されず, 全例で好気性グラム陽性球菌が検出された。

当院では, 血液培養時, 大腿動脈から採血された例が多くみられたこと, 鼠径部皮膚の培養で, *Clostridium perfringens* の検出される例があること, 芽胞形成期の *Clostridium* は皮膚消毒剤に抵抗性であることなどから, 血液採取時に *Clostridium* による汚染をひき起こし得る条件にあったといえる。一方, *Clostridium* の病原的意義の明らかな症例もみられ, 胆道感染由来の *Clostridium perfringens* 敗血症に伴い, 溶血毒によると思われる溶血性貧血を合併した症例も経験している。Weinstein は, 血液培養にて, *Clostridium* の検出された25例中11例 (44%) は, 汚染によると考えられたと報告

しており, 血液培養にて *Clostridium* が検出された場合, 採血時汚染の可能性も念頭においた慎重な判断が必要と思われる。

## 2. 胆道感染症における嫌気性菌の発症機序

岩井 重富

日本大学医学部第三外科

近年, 外科領域感染症においても起炎菌の変遷があり, グラム陰性桿菌感染症が陽性球菌感染症に比べて優位を占めるに至り, 糖非発酵菌などの弱毒菌感染や混合感染問題など, 種々の難題が発生している。特に最近, 腹部外科領域においては, 嫌気性菌感染症が重要問題となってきた。嫌気性菌は消化管常在菌中, 最多数を占める菌種であり, 特に, *Bacteroides* sp. は下部腸管においては  $10^{10} \sim 10^{12}/\text{ml}$  にも達する。消化器系術後感染あるいは胆道系感染症においては, これを軽視できない。

嫌気性グラム陰性桿菌は, 従来弱毒菌とされているが, 混合感染では強い病原性を発揮するとともに,  $\beta$ -lactamase 産生による抗菌剤不活化などの作用が重視されている。われわれの腹部外科領域では, 胆汁および胆汁についてみると, 約50種類の細菌が検出されており, そのうち胆汁では約26%に嫌気性菌がみられ, 胆汁においても8.4%に検出されている。これを年度を追ってみると, 胆汁では1977年, 207検体中33検体 (15.9%) であったが, 1982年では45.6%と年を追うにつれて上昇しており, 胆汁検体についても胆汁と同様増加傾向を示している。胆汁からの主要検出菌は *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. faecalis*, *E. cloacae*, *Bacteroides* sp. の順位で1982年に至って *Bacteroides* sp. は第4位の検出率となっている。また, 嫌気性菌の検出頻度についてみると, *Bacteroides* sp. を主体とする嫌気性グラム陰性桿菌, 嫌気性グラム陽性桿菌, グラム陽性球菌の順である。これらの細菌は各検体より単独で検出されるよりもむしろ, 他菌種とともに検出される場合が非常に多く, 胆汁では検体の73.1%が複数菌検出例であり, 胆汁でも71.2%である。特に, 嫌気性菌の検出された検体についてみると, 胆汁では91.8%, 胆汁では実に95.0%が複数菌検出例であった。複数菌検出時において, それぞれの細菌の菌量について検討すると, 胆汁検体ではグラム陰性桿菌が非常に多量で出現しているが, なかでも *Bacteroides* を主体とする嫌気性グラム陰性桿菌は他菌に比べて特に多量に存在することが判明した。これは好気性菌増殖による酸化還元電位の低下により嫌気性菌が優位に増殖できる条件が胆道系に

においてより強いと推察できる。

胆道系感染症の発症には、まず、細菌の存在が必須条件と考えられるが、発症に至るまでの菌の増殖を促進する諸因子も多いと考えられる。結石の存在、これにかかわる胆汁組成、胆道通過障害、これにかかわる基礎疾患、黄疸の程度あるいは基礎疾患の重症度など、また外科領域においては、胆道系悪性疾患に対する腸管による胆道再建、あるいはバイパス手術後などの不自然な胆汁排泄経路も感染発症に大に関係するものと思われる。われわれの自験例について上記の諸因子につき検討を加えた。

最近胆汁から嫌気性菌の検出された 15 症例について、その特徴を検討してみると、良性疾患 12 例、悪性疾患が 3 例で、良性疾患はすべて胆管内に結石を有する症例であった。

悪性疾患は総胆管癌が 2 例と胃癌手術再発でリンパ転移による閉塞性黄疸をきたした症例であった。これら 15 症例中嫌気性菌感染の誘因となりうる要因についてみると、総胆管内結石、これに対する総胆管切開、T-tube drainage が最も多く、胆道の閉塞状態や、胆嚢内結石も重要な要素と思われる。悪性疾患についても、これによる胆道閉塞状態が重要な因子と思われ、また、悪性腫瘍摘出後の腸管の再建による上行性感染も重視すべき問題と思われる。一般的な感染での要因として、これらのほかに宿主の問題、悪性疾患に対する ATA の使用、radiation など免疫力の低下も重視すべきで、黄疸自体でもこれに強い影響を及ぼしているようである。また抗生剤の選択も重要な要素といえる。

次に嫌気性菌検出症例では、ほとんどすべてが好気性菌との混合感染であるが、同一症例の臨床経過中、好気性菌のみの混合感染時と好気・嫌気混合感染時での発熱、白血球数、CRP などについて比較検討を加えたが、嫌気性菌の混合感染時では好気性菌のみの混合感染に比較して、より重篤な状態である場合が多く、その重症度も検体中の嫌気性菌の菌量に比例しているように思われる。白血球数についてみると、好気性菌の混合感染時 15 例平均  $12,000/\text{mm}^3$  であったが、嫌気・好気混合感染時では 15 例平均  $14,000/\text{mm}^3$  となり  $8,000/\text{mm}^3$  以下のものはわずかに 1 例にすぎなかった。血清ビリルビン値についても同様な比較を行なったが、これでは有意の差は認められなかった。しかし、いずれも、Total bilirubin の平均値は  $5\text{mg/dl}$  以上であった。検出された嫌気性菌では *Bacteroides* sp. を主体とする嫌気性グラム陰性桿菌が最も多く、27 菌株中 14 株 (52%) を占め、次いで *C. perfringens* を主体とする嫌気性グラム陽性桿菌が、10 株 (37%) であった。これらのうち、全般

的に嫌気性グラム陰性桿菌の関与した症例が、嫌気性グラム陽性桿菌の症例より重篤な症状を呈した。嫌気性グラム陰性桿菌、特に *B. fragilis* には胆汁酸抱合能があるため、遊離胆汁酸を産生する。このなかには deoxycholic acid があり、これは、かなりの組織毒性を示すとされている。また、*B. fragilis* には自己防御能にかかわる superoxide dismutase の保有、その他多くの酵素産生能もありとの報告もあり、以上のことから臨床上的のグラム陽性桿菌との差異も示唆されるが、今後とも、より一層の検討がのぞまれる。

上記のごとく、嫌気性菌単独による発症は臨床症例では極めて少なくほとんどが、好気性菌との混合感染であって病原性の相乗作用がおこっているものと思われる。また嫌気性菌の分離される病巣においては、そこに共存する好気性菌も嫌気的条件下で代謝をいとなんでいるものと推察される。したがって好気性菌の嫌気条件下での薬剤に対する感受性についても検討の余地ありと考える。胆道系感染治療には薬剤の移行性が重視されるが、近年胆道移行の良好なセフェム系薬剤の開発がめざましく、これらの薬剤が多用されることは必至である。

病巣分離保存の *Bacteroides* sp. の  $\beta$ -lactamase 産生能について検討したが検索した 78 株の半数が  $\beta$ -lactamase 産生株であった。好気性菌に対する抗菌力や胆道移行性のみでなく  $\beta$ -lactamase に対する抵抗性も充分考慮して薬剤を選択する必要がある。

### 3. 腹腔内感染症における腸内嫌気性菌叢の発症機序

井上敏直・丸山 洋・三島好雄

東京医科歯科大学第二外科

腹腔内感染症においては、腸管内に常在する多種多数の細菌が原因菌となるため、腸内常在細菌由来の好気性菌と嫌気性菌が種々の組み合わせで分離され、混合感染の形をとることが多い。特に、消化器外科手術における術後感染症は、腸管内の常在細菌が術中、術後に腹腔内、手術創に散布されることにより発生する内因性感染であるため、常在細菌の多い大腸手術では、創感染、腹腔内感染などの術後感染の頻度が高く、また、嫌気性菌が原因菌として高頻度に分離される。今回、消化器外科領域における術後腹腔内感染症の現状と大腸手術の術前腸管処置法による臨床成績から、腹腔内感染の発症における腸内嫌気性菌叢の役割について検討を加えた。

#### 1. 術後腹腔内感染症の現況

教室における最近 9 年間の消化器外科手術後の感染症の頻度は、下部消化管手術では 29.2%、上部消化管で

は 16.7%, 肝・胆道系では 11.9% であり, 下部消化管手術後に高率に発生した。術後感染症の内訳は, 創感染が 38.5% と一番多く, 次いで腹腔内感染が 30.2% を占めていた。下部消化管手術後の感染起炎菌は *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *St. faecalis*, *Bacteroides* が主な菌種であった。

最近 1 年間に経験した腹腔内感染 50 例についての好気・嫌気培養結果では, 嫌気性菌単独感染は 9.8%, 嫌気性菌と好気性菌の混合感染は 53.6%, 好気性菌単独感染は 36.6% で, 培養陽性例の 63.4% に嫌気性菌が関与していた。混合感染例においては, 膿の定量培養結果, ほとんどの症例で菌数的にも嫌気性菌が優勢ないし同等に検出され, 腹腔内感染において嫌気性菌が起炎菌として大きな役割を占めていることがうかがわれた。

術中に消化管各部位より腸内容採取し, ヒトの腸管内細菌叢を検索し, 腹腔内感染症例の膿の定量培養結果と比較したところ, 術後腹腔内感染症の起炎菌は手術対象臓器内の常在細菌叢と関連性があった。

#### 2. 術前腸管処置法による術後感染予防効果

大腸手術においては, 術後感染を予防する目的で, 術前に下剤, 浣腸, 経口的抗生剤投与などにより, 感染源となる腸内常在細菌を減少させる方法が一般に行なわれている。各種抗生剤投与別に腸内細菌叢の減少効果と術後感染発生頻度を比較検討した。抗生剤無投与群: 機械的洗浄のみでは腸内細菌の減少はわずかで, 術後創感染率は 33%, 腹腔内感染率は 24%。KM1 投与群: 好気性菌は減少するが嫌気性菌は減少せず, 創感染率 25%, 腹腔内感染率 10% で感染予防効果は少なかった。抗生剤 2 剤投与群 (KM+Metronidazole, KM+CLDM, PLB+Met. または Tinidazole, TOB+Met.): 好気性菌および嫌気性菌の両者が著明に減少し, 創感染率はそれぞれ, 1.6, 9.6, 7, 4.3, 0% であり, 腹腔内感染率はそれぞれ 4.8, 3.8, 1.8, 0% と低い発生率であり, 各々抗生剤無投与群に対し有意の減少を示し, 術後感染予防効果が認められた。PLB を投与した群では *Streptococcus* の減少は認められなかった。以上の成績より, 腸内細菌叢の好気性菌のみを減少させ, 嫌気性菌が多数存在する処置法では術後感染症は減少せず, 好気性グラム陰性桿菌と嫌気性菌の両方が減少する腸管処置法ではじめて術後感染予防効果が認められた。すなわち, 嫌気性菌が一定量以上存在することにより感染症の発生が促進させられるものと考えられる。

術前腸管処置法における経口的抗生剤投与の問題点として, 投与した抗生剤に対する耐性菌が腸管内に残存し, この耐性菌が術後感染症の起炎菌となる可能性があるため, 術前腸管処置に使用する抗生剤は, 感染症の治

療剤として一般に使用されているものより, 使用頻度の少ない, KM, PLB, Met., Tinid. などが望ましい。

#### 3. 実験的腹腔内感染症

体重 150 g~200 g のウィスター系ラット雄を用い, ネンブタール麻酔下に開腹し, 硫酸バリウム 0.1 g, 滅菌ラット糞便 0.1 g, 菌液 0.5 ml をつめたセラチンカプセルを骨盤腔内に留置した。*E. coli* と *B. fragilis* 腹腔内接種による死亡率は, 接種した *E. coli* の菌量に左右された。腹腔内膿瘍形成は, *E. coli* 単独でも認められたが, *B. fragilis* が関与することにより膿瘍形成率が高くなり, 膿瘍が大きくなる傾向があった。*E. coli* と *B. fragilis* 混合接種による腹膜炎に対する TOB と CLDM の治療効果は, 無治療群で 100% 死亡する菌量において, CLDM 投与では治療効果は認められず, TOB 投与では死亡率は 80% に下がったが, TOB+CLDM 投与では死亡率はさらに 40% に低下した。好気性菌と嫌気性菌の混合感染例には, 両者に抗菌力のある抗生剤を投与して初めて, 十分な治療効果を期待できるものと思われる。

#### 4. 実験モデルの overview

岡 田 淳

関東通信病院微生物学検査科

嫌気性菌感染症の重要性が強調されるようになって既に 10 数年を経ている。殊に opportunistic infection や polymicrobial infection の多くで嫌気性菌の関与が報告されているが, 嫌気性菌が単独で感染することは非常に稀で, compromised host に好気性菌とともに侵入し, あるいは常在菌叢の中の嫌気性菌が増殖して感染症に進展することになる。嫌気性菌感染の発症機序については *Clostridium* や *Fusobacterium* の一部の菌種のように endotoxin を産生する菌種を除いて, 感染における菌と宿主との関係は殆ど解明されていない。これらの機序の解明には臨床的な検討のみでなく動物感染モデルを用いた研究が必要となる。そこで私は, 嫌気性菌を用いた実験感染の現状を文献的に考察し, さらに自験例の性質感染モデルを紹介することにより, 実験モデル作製に係る問題点を挙げ, 実験感染の将来展望としたい。

##### 1. 文献的考察

1972~1982 年の 10 年間における実験感染の報告を感染症の種類別に分けると, 腹腔内感染 (25.3%), 皮膚感染 (19.8%), 肝・胆道系感染 (13.2%), 歯周疾患 (6.7%) の順であった。腹腔内感染は腹腔内に菌を接種して intraabdominal abscess や sepsis を惹起させるもので単独菌および好気性菌との複数菌感染モデルとして

国内外で繁用されており、Weinstein や Bartlett らのセラチンカプセル（菌と BaSO<sub>4</sub> をカプセルに封入して腹腔内に設置）が注目されている。また皮膚感染モデルは subcutaneous abscess, granuloma, phlegmone などを含む。一方、上記以外のモデルとして中耳炎、骨髄炎、肺感染症、尿路感染症、角膜炎などが試みられ、また基礎的研究として嫌気性菌の adhesion や chemotaxis に関する実験がある。感染菌としては *Bacteroides fragilis* を主とした *Bacteroides* 属が全体の 70%、*Fusobacterium* が 19% であった。嫌気性球菌は菌性感染症、中耳炎、呼吸器感染などで他菌との混合でのみ用いられ、単独菌感染の報告はなかった。また中耳炎、骨感染で *Propionibacterium acnes* が用いられている。一方、実験動物としてはラットとマウスが多く各々 30% ずつ、家兎 19%、モルモット 9% であった。

ここで近年注目されている二相性感染理論 Biphase theory についてその歴史的背景をみると、この感染理論は Meleney (1931 年) の報告（虫垂炎における黄色ブドウ菌と微好気性レンサ球菌の混合分離例）に端を発し、Hite (1949), Mergehagen (1958), MacDonald (1963) らにより基礎的検討がなされ、Gorbach や Bartlett らが理論体系を完成したもので、現在好気性菌と嫌気性菌との混合感染の発症および感染経過を説明する有力な手段として容認されている。

## 2. 自験例としての性器感染モデル

好気性菌による実験的性器感染モデルはラットや犬を用いた報告があるが、嫌気性菌によるものは殆どなく、Hammill (1982), 笠井 (1983) の報告があるに過ぎない。Hammill は estradiol 処置ラットの結紮子宮に *B. fragilis* を接種し、pelvic abscess model の作製を試みている。さて私が 1981 年末試みている子宮内感染モデルの概要を示す。PMSG および HCG 処置家兎の子宮頸部を結紮し、子宮角より 5% ムチン加の菌液（接種菌量は 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup> cfu/家兎）を接種する。好気性菌（大腸菌）と嫌気性菌（*B. fragilis*）の混合感染では子宮腔部を結紮し、両方の子宮角より各々の菌液を接種した（*E. coli* の菌数を *B. fragilis* の菌数の 1/100 程度とする）。感染 4~7 日以内に子宮内膜には炎症細胞浸潤を伴う炎症性変化が発現し、子宮内膜炎の発症が確認された。電顕では、すでに 2 日目に多数の菌を貪食した Macrophage や PMN が内膜面に接して存在し、白血球の遊走や食作用が活発に行なわれていた。感染 10~14 日目には子宮は径 3.5 cm 大まで腫大し、子宮壁は正常の 5 倍以上にも肥厚、子宮腔内には多数の菌と炎症細胞、一部に多核巨細胞の混じった膿汁が多量にみられた。内膜は殆

な myometritis の像を示した。一部の例では膣炎や卵管炎の合併もみられた。電顕では脱落した子宮内膜面には少数の散在もしくは PMN に貪食された菌がみられたが、光顕で最も炎症性変化の著しい筋層では、断裂した筋線維の間に PMN、形質細胞の極めて著明な浸潤がみられたにも拘らず、菌は全く存在せず、感染の局所像として興味深いものであった。なお混合感染例では単独菌感染例より早期に膿瘍形成を伴う内膜炎および筋層炎の発症が確認され biphasic infection が裏付けられた。表は成績のまとめである。このように、私の提示したモデルは組織学的に感染が確実に証明され、他の検査所見（白血球数、酸化還元電位など）でも非感染群と有意の差が得られたことより、子宮内感染のモデルとして推奨されるものと考えられる。

## 3. 実験感染モデルの overview

1) 感染菌：目的とする感染症の種類により、感受性のある菌種、菌株を選定すべきである。また炎症細胞の chemotaxis や phagocytosis を抑える作用があるとされているアジュバントの添加なくしては容易に感染を惹起しえない。一般的には BaSO<sub>4</sub>, gastric mucin, CaCl<sub>2</sub>, 血色素, sterile feces などが繁用されているが、前述した gelatin capsule の使用も有効であろう。

2) 実験動物：これも目的に応じて選択すべきであるが、動物種により感染に対する感受性に差のある場合があるので留意すべきである。また感染動物を compromised host にすることは是非については異論があるが、原則的にはなるべく自然に近い状態での感染モデルが望ましいであろう。

3) 感染の証明：全身および局所の炎症所見の確認はもちろんのこと、組織学的、免疫学的に感染の確認を行なう必要がある。それに加えて菌と生体細胞（炎症細胞や標的組織の体細胞）との interaction の解明も重要である。即ち菌の産生する酵素（SOD など）や Macrophage, PMN (lysosomal enzyme) との相互関係の究明は今後の重要な研究課題となるであろう。

4) 化学療法：感染発症の証明を確実にした上で化学療法開始の時期、投与量、投与期間などを決め、適切な治療を行なう必要がある。この場合使用動物における薬剤の体内動態をあらかじめ調べておくのは当然である。

以上嫌気性菌実験感染のあり方として文献的考察ならびに自験例からの私見を述べた。感染モデルの作製と並行して host defense の面から感染の process を研究することが嫌気性菌感染症の発症機序の解明と化学療法の確立に不可欠であることを強調したい。

表. 家兎による実験的子宮内感染

| 検 種 菌 種                                        | 感染成立頻度 (%)  | 膿瘍形成頻度 (%) |
|------------------------------------------------|-------------|------------|
| 単 独 菌:                                         |             |            |
| <i>E. coli</i> KH-8201                         | 4/5 (80%)   | 4/5 (80%)  |
| <i>B. fragilis</i> GM-10                       | 0/5 (0%)    | 0/5 (0%)   |
| JM-137                                         | 10/15 (67%) | 8/15 (53%) |
| GAI-0558                                       | 11/15 (73%) | 9/15 (60%) |
| <i>P. asaccharolyticus</i> GAI-5245            | 1/5 (20%)   | 0/5 (0%)   |
| <i>P. anaerobius</i> GAI-3326                  | 1/5 (20%)   | 0/5 (0%)   |
| 関 合 菌:                                         |             |            |
| <i>E. coli</i> + <i>B. fragilis</i> (JM-137)   | 3/3 (100%)  | 3/3 (100%) |
| <i>E. coli</i> + <i>B. fragilis</i> (GAI-0558) | 4/5 (80%)   | 4/5 (80%)  |

頁 英文文字 (イタリックは菌名)

- 1 opportunistic infection  
polymicrobial infection  
compromised host  
*Clostridium*, *Fusobacterium*  
endotoxin
- 2 intraabdominal abscess  
sepsis  
Weinstein, Bartlett  
BaSO<sub>4</sub>  
subcutaneous abscess, granuloma, phlegmone  
adhesion, chemotaxis  
*Bacteroides fragilis*  
*Bacteroides*, *Fusobacterium*  
*Propionibacterium acnes*
- 3 Biphasic theory  
Meleney  
Hite, Mergehagen, MacDonald  
Gorbach, Bartlett  
Hammill, estradiol  
*B. fragilis*  
pelvic abscess model
- 4 FMSC, HCG  
*E. coli*, *B. fragilis*  
Macrophage, PMN  
myometritis
- 5 biphasic infection  
overview  
chemotaxis, phagocytosis
- 6 BaSO<sub>4</sub>, gastric mucin, CaCl<sub>2</sub>, sterile feces  
gelatin capsule  
compromised host  
interaction  
Macrophage, PMN (lysosomal enzyme)
- 7 host defense  
process

## 5. 実験的複数菌感染における嫌気性菌の病原性

五島瑛智子・宮崎 修一

東京大学医学部微生物学教室

細菌の病原性に関する毒性物質は、菌種によって異なるが、exotoxin, endotoxin, lecithinase, lipase, hemolysin, protease, elastase などがあり、また白血球の殺菌作用に抵抗する catalase, superoxide dismutase (以下 SOD と略す) などが知られている。

嫌気性菌感染症の中で検出頻度の高いのは *Bacteroides* 属をはじめとする無芽胞グラム陰性桿菌で、これらの菌は通常他の好気性菌、通性嫌気性菌と共存してヒトの正常細菌叢を構成している。そのため感染症もそれらの菌種との複数菌感染症となる頻度が高いと考えられる。複数菌感染症における嫌気性菌の病原性の解析には多くの困難が伴うが、今回は *B. fragilis* の複数菌感染症における病原性解析を目的としたいいくつかの実験成績を紹介し、*B. fragilis* 感染の成立に関わる要因を考察した。

1. *in vitro* 混合培養における菌の増殖

普通ブイヨン、新鮮ヒト血清中での単独培養で増殖しない *B. fragilis* が *E. coli*, *K. pneumoniae* などと混合培養すると GAM ブイヨン中と同じく良好に増殖する。この現象の最大の理由は混合培養において酸化還元電位の低下により、*B. fragilis* の増殖が著明に促進されるためである。

2. *in vivo* マウス感染における菌力の増強

*in vivo* マウス腹腔内感染でも *E. coli* との混合感染では、*B. fragilis* および *E. coli* 単独感染に比べ2菌種の混合感染では著しい菌力増強が認められている。またこのような混合感染系においては2菌種の感染時期が重要で、*E. coli* を同時あるいは優先感染させなければ菌力の増強は認められない。この実験系では、*E. coli* 感染を優

先さす6時間後に *B. fragilis* を感染させた場合はマウスは100%死亡し、菌力増強効果が明らかであったが、逆に *B. fragilis* 感染を優先させ2時間後に *E. coli* を感染させた群ではマウスの死亡率0%で全く単独感染と同じであった。*in vivo* 混合感染時の腹腔内(液)と血清の酸化還元電位は、*E. coli* の共存により低下していることが認められた。

3. 混合感染治療における菌の薬剤不活化酵素の影響  
*B. fragilis* の多くの株は cephalosporinase を産生することが知られている。この不活化酵素の投与薬剤、さらに治療効果への影響を調べるための実験を行なった。*E. coli* C-11 と *B. fragilis* GM 7004 の感染菌量それぞれ MLD 以上と MLD 以下を複数菌感染したマウスに対するセファロスポリン系薬剤の治療効果 ( $ED_{50}$ ) は、*E. coli* C-11 単独感染群での  $ED_{50}$  よりも大きくなる。この場合、薬剤投与量の増加に伴い死亡マウス心臓からは *B. fragilis* が多く検出され、菌交代症が起こる。さらに時間の経過に伴い *E. coli* の菌量も増加する。*B. fragilis* の産生する  $\beta$ -ラクタマーゼにより生体内で投与薬剤が不活化されるためである。この種の混合感染では、両細菌に対し抗菌力を示す薬剤または *B. fragilis* に強い抗菌活性を示す薬剤 metronidazole などと *E. coli* に抗菌力を有する薬剤の併用により著明な相乗効果が得られることを確認した。

#### 4. 菌の superoxide dismutase および catalase 活性と菌力

感染の成立には菌の宿主防御機能への抵抗が重要因子となる。マウス血清の殺菌作用は、*B. fragilis*, *E. coli* に対し極めて弱いので、好中球の貪食殺菌作用に抵抗することが知られている。細菌側の酸素依存性因子として、SOD, catalase 活性を調べ、菌力との関係を検討した。

*B. fragilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *Proteus* 属, *P. aeruginosa* 各5株について上記2種の酵素活性を測定した。各菌種間の SOD と catalase 活性の相関性は *P. aeruginosa* で比較的高く、*K. pneumoniae* では全く認められず、他菌種では明らかではなかった。しかし SOD 活性と菌力 ( $LD_{50}$ ) との間には、*B. fragilis*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae*, *Proteus* グループ, *P. aeruginosa* で相関性が高く、catalase と  $LD_{50}$  との間に相関性が認められたのは *E. coli* であった。

さらに *B. fragilis* と他菌種との混合感染による菌力増強効果と2種の細菌の酵素活性を比較した結果、SOD 活性または catalase 活性ともに高い菌株との混合感染で菌力増強効果が著明となることが明らかとなった。

*in vitro* での好中球の貪食殺菌率と SOD, catalase 活性の関係を調べたところ、菌力との相関性と同じような

傾向を示した。すなわち *E. coli* では catalase 活性の高い株、*P. aeruginosa* では SOD 活性の高い株が貪食殺菌に抵抗した。

以上の実験から、*B. fragilis* の混合感染では増殖が促進されることとともに菌株の SOD, catalase 活性がその易感染性に大きく影響していると考えられる。

## 6. 特別発言 嫌気性菌感染症の諸問題

松田 静治

順天堂大学産婦人科

嫌気性菌感染には感染の好発部位や感染頻度の高い疾患(深部膿瘍形成疾患など)が各科でみられるが、問題は複数菌感染に占める嫌気性菌の役割と病原性の実証であり、本シンポジウムは実験感染の成立を含めて、この点に関して一歩踏み込んだ成果が得られたと思われる。好気性菌+嫌気性菌感染における細菌相互の関係、役割について基礎実験で菌力の増強が裏付けられているが、外科領域の感染症では菌量的な優位を保つ本菌単独の病原性が弱いことはいえない。また難治性との関係でバクテロイデスの意義が強調されているが、嫌気性球菌の臨床的意義も性器感染症をはじめ決して低くないことを指摘したい。ただ嫌気性菌は第一義的な病原菌とはいえないので、発症要因、背景因子などを含め今後の検討課題は多い。

## 新薬シンポジウム

Azthreonam (SQ 26,776)

## はじめに

原 耕 平

長崎大学第二内科

小林 宏 行

杏林大学第一内科

$\beta$ -ラクタム系抗生物質の概要を図1に示した。現今の多くのペニシリン系抗生物質はこの図の中の Penam 系に含まれ、また近年の第1世代から第3世代のセファロスポリン系ないしはセファマイシン系抗生物質はいわば Cephem 系と Oxacephem 系に包括されて、これらは実地の臨床においても大いに使用されている。Penem 系については現今登場している薬剤はないが、Carbapenem 系はその名も チェナマイシンとして、最近治験の段階にて検討が行なわれている。この図の一番右に書かれた Monobactam 系について、ここにシンポジウムを開いてその成績が発表されることになったわけである。